Iz

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, H. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolt-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, [illegible]k-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Ber[illegible]in-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-K[illegible], K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. [illegible], A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenundfünfzigster Band.

Ausgegeben am [illegible] 1913.

M

IEESMUSEUM AMSTERDAM.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.

M

[illegible]ESMUSEUM

QP501
.B58
v. 57

CHEMISTRY LIBRARY

F.G.KOSTER BOEKBINDER
AMSTERDAM

JOURNAL
Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY
M

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, H. v. Euler-Stockholm, S. Fiexner-New York, S. Fränkel-Wien, H. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, R. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, B. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Steklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenundfünfzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.

LEESMUSEUM
AMSTERDAM

351323
QP501
.B58
v. 57

INDIANA UNIVERSITY
LIBRARY

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

SPECIAL LIBRARY ROOM Chem OCT 31 1940

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Markoff, J. Fortgesetzte Untersuchungen über die Gärungsprozesse bei der Verdauung der Wiederkäuer und des Schweines 1

Michaelis, L. und **P. Rona.** Die Wirkungsbedingungen der Maltase aus Bierhefe. I. 70

Rona, P. und **F. Arnheim.** Beitrag zur Kenntnis des Erepsins . . . 84

Spoehr, H. A. Photochemische Vorgänge bei der diurnalen Entsäuerung der Succulenten 95

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. XVIII. 112

Wierzchowski, Zenon. Über das Auftreten der Maltase in Getreidearten 125

Lean, Hugh Mac. Die Phosphatide des Herzens und anderer Organe 132

Reale, Enrico. Beitrag zum Kohlenstoffumsatz 143

Straub, Walther. Über die Beeinflussung der Morphinwirkung durch Nebenalkaloide des Opiums 156

Loewe, S. Membran und Narkose. Weitere Beiträge zu einer kolloidchemischen Theorie der Narkose 161

Blumenthal, Ferdinand und **Kurt Oppenheim.** Über aromatische Quecksilberverbindungen. III. 261

Meyer, Kurt. Über das Verhalten einiger Bakterienarten gegenüber d-Glucosamin 297

Bang, Ivar. Über die Mikromethode der Blutzuckerbestimmung . . 300

Carlson, Tor. Über Geschwindigkeit und Größe der Hefevermehrung in Würze 313

Rosenblatt, M. Bemerkung zu einer Mitteilung von G. Sonntag: „Die Methode von Gabriel Bertrand zur Zuckerbestimmung“ 335

Simon, Friedrich. Zur Kenntnis der Giftwirkung arteigener Organprodukte 337

Kumagai, T. Das Verhalten der Maltase im Blutserum des hungernden und gefütterten Tieres 375

Kumagai, T. Versuche über die Antigenwirkung der Kohlenhydrate 380

Seite

Jolles, Adolf. Beitrag zur volumetrischen Harnstoffbestimmung . . 414

Jolles, Adolf. Über den Nachweis der Saccharose im Harn 420

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. XIX. 423

Chodat, R. und **K. Schweizer.** Über die desamidierende Wirkung der Tyrosinase 430

Kanitz, Aristides. Bezüglich der Reaktionskinetik der Glucolyse . . 437

György, P. Beiträge zur Permeabilität der Blutkörperchen für Traubenzucker 441

Thomas, Erwin. Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung. I. 456

Hornemann, O. Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung. II. 473

Pal, J. und **E. Popper.** Über die Darmwirkung des Codeins und des Thebains 492

Krauß, Fritzi. Druckfehlerberichtigung zur Arbeit: Über Reaktion zwischen Antikörper und gelöstem Antigen 495

Autorenverzeichnis 496

Fortgesetzte Untersuchungen über die Gärungsprozesse bei der Verdauung der Wiederkäuer und des Schweines.

Von

J. Markoff.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftl. Hochschule.)

(Eingegangen am 30. August 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Im Band 34 dieser Zeitschrift S. 210 habe ich über eine Reihe von Untersuchungen berichtet, die zum Teil im Anschluß an gleichzeitig im Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule ausgeführte Respirationsversuche die Gärungsprozesse beim Wiederkäuer aufzuklären suchten. Damals wurden einerseits Pansengase und Mastdarmgase direkt untersucht, andererseits der Inhalt dieser beiden Gärkammern des Wiederkäuers für sich und mit Zusätzen von Nahrungsbestandteilen der Gärung unterworfen und die gasförmigen Produkte untersucht. Im unmittelbaren Anschluß an die damaligen Versuche wurden dann noch derartige Gärungsversuche mit ausgehebertem Panseninhalt ausgeführt, bei denen zugleich die calorische Bilanz dieser Gärung studiert wurde. Ich bediente mich dabei im Prinzip jener Methode, die Tangl[1]) und seine Schüler beim Studium der Entwicklung verschiedener Tiere angewandt hatten und die auch schon zum Studium der Energetik von Mikroorganismen gedient hat. Es wurde der Brennwert des zu untersuchenden Materials vor und nach der Gärung bestimmt, während gleichzeitig die Gärungsgase quantitativ untersucht wurden. Für diese Untersuchungen, die ich nach kurzer Zeit wegen der sehr großen Schwierigkeit ihrer Ausführung und wegen der infolgedessen unvermeid-

[1]) Tangl, Arch. f. d. ges. Physiol. **93**, 327; **98**, 475.

lichen Ungenauigkeit aufgab, bediente ich mich derselben Gärkölbchen, die für die früheren Untersuchungen benutzt waren (vgl. l. c. S. 226). Die Gärkölbchen befanden sich in einem geräumigen, mit Hilfe eines Thermoregulators auf konstanter Temperatur erhaltenen Wasserbade. Sie waren zur Ableitung und Aufsammlung der Gase mit einer 800 mm langen Capillare, deren unteres aufgebogenes Ende in ein Schälchen mit Quecksilber tauchte, armiert. Mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe, deren Schlauch über das aufgebogene Ende der Capillare gezogen war, wurden die Kölbchen evakuiert und dann unter Quecksilber der Schlauch entfernt. Das allmähliche Sinken des Quecksilbers kontrollierte die Gasentwicklung. War im Gärkolben Barometerdruck erreicht, so begann die Aufsammlung des Gases in einem über die Capillare gestülpten Eudiometer. Nach reichlicher Gasentwicklung konnte der nicht ins Eudiometer übergetretene Anteil aus der bekannten Kapazität des Gärkolbens und seiner Flüssigkeitsfüllung berechnet werden. Ferner ließ sich aus den Absorptionskoeffizienten und der analytisch bestimmten Zusammensetzung des Gases bei dem bekannten Druck berechnen, wieviel der einzelnen Gärungsgase in der Flüssigkeit absorbiert geblieben war. Die Gärung mußte, um einen genügenden Ausschlag bei der Untersuchung des Brennwertes zu erzielen, lange fortgesetzt werden, in den hier mitzuteilenden Versuchen 3 Tage. Dieser Umstand trägt natürlich mit dazu bei, den Charakter der Gärung von normaler Pansengärung abweichend zu gestalten. Wir werden in den folgenden Abteilungen dieser Arbeit sehen, daß man die genauesten Resultate erhält, wenn man die Gärung so rasch wie möglich nach Ausheberung des Panseninhaltes einleitet und nur wenige Stunden dauern läßt. Nur einige der in der geschilderten Weise angestellten Versuche gelangen so weit, daß die Resultate hier mitgeteilt werden können.

Nach Beendigung des in den Landw. Jahrbüchern Bd. 44 S. 774 beschriebenen Stoffwechselversuchs an einem Ochsen, der mit 7 kg Heu und 2,43 kg Trockenschlempe täglich gefüttert wurde, heberte ich eine größere Menge Panseninhalt aus und setzte mit demselben 4 Gärungsproben an. Gleichzeitig wurden Gase aus dem Pansen entnommen, die folgende Zusammensetzung zeigten: 78,00% CO_2, 21,20% CH_4, 0,79% H_2. Bei

diesen Analysenzahlen ist die geringe Menge Stickstoff und die Spur Sauerstoff, die gefunden wurden, abgerechnet, da diese Gase ja als Verunreinigungen aus der atmosphärischen Luft anzusehen sind. Wenn man diese Zusammensetzung des Pansengases mit derjenigen der Gärungsgase Tabelle I Kolonne 11 bis 13 vergleicht, sieht man, daß die Gärung in den Kölbchen sehr wesentlich von der normalen im Pansen abweicht. Das zeigen besonders deutlich die Relationszahlen Kolonne 22 bis 24. Von dem ausgeheberten Panseninhalt wurden 4 Gärproben mit je 150 ccm angesetzt, eine mit Beigabe von 1,5 g Glucose gelöst in 25 ccm destilliertem Wasser und 2 g Schlemmkreide, und eine zweite mit derselben Glucosemenge ohne Kreide, eine dritte, der außer 1,5 g Glucose und 2 g Kreide noch 1,5 g Asparagin zugesetzt war, und endlich eine mit Beigabe von 1,5 g Kirschgummi in 25 ccm Wasser ohne Kreide. Über die bei der Gärung auftretenden Gase gibt folgende Tabelle I Aufschluß.

Wir ersehen daraus, daß die Methanbildung, die offenbar der normalen Pansengärung entspricht, durch Zusatz von Kreide, d. h. durch Neutralisation der bei der Gärung gebildeten flüchtigen Fettsäuren wesentlich erhöht wird, ohne daß gleichzeitig die Kohlensäurebildung merklich wächst. Ob das geringe Plus an Kohlensäure (20 ccm) gleich etwa 5% des ganzen Wertes überhaupt auf verstärkte Gärung zurückzuführen ist, läßt sich nicht entscheiden. Möglicherweise ist es durch die Fettsäuren aus der Kreide frei gemacht. Die für das Verständnis der ganzen Gärung so wichtige Trennung der gebildeten Kohlensäure in Gärungsprodukt und aus Alkalicarbonat frei gemachte Kohlensäure war erst in den späteren, in der Blutgaspumpe ausgeführten Versuchen möglich. Sehr erheblich zeigt sich in diesem Versuch 26, wie in manchen der früher veröffentlichten, die Einwirkung des zugesetzten Amides auf die Intensität der Gärung, indem die Kohlensäureentwicklung von 383 auf 478 ccm anstieg. Dabei ist die gebildete Methanmenge etwas vermindert, d. h. innerhalb der Fehlergrenze konstant, und auch die Variation in der Wasserstoffbildung kommt nicht in Betracht. In typischer Weise ist dagegen die Gärung verändert in Versuch 4, wo an Stelle der Glucose ein Pentosan (Kirschgummi) wie in Versuch 3 ohne Zusatz von Kreide gegeben wurde.

Tabelle

Gärungsversuche mit Panseninhalt vom Rind.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres und Zeit der Panseninhaltprobeentnahme	Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein zur organ. Subst. %	Nummer der Gasprobe	Dauer der Gärung Tage	Angewandte Gasmenge zur Analyse ccm	Zusammensetzung der entwickelten Gase		
										CO_2 %	CH_4 %	H %
26 30. VI. 1911	7 kg Heu, 2,43 kg Schlempe	1. 150 ccm Panseninhaltfiltrat mit Zusatz von 1,5 g Glucose, 1,5 g Asparagin, 2 g Kreide u. 25 ccm Aq. dest.	3,460	1,534	1,926	44,33	1	3	54,173 [1]	96,60	3,33	0,07
		2. 150 ccm Panseninhalt mit 1,5 g Glucose, 2 g Kreide u. 25 ccm Aq. dest.	2,134	0,208	1,926	9,74	1	3	35,523 [1]	94,30	5,47	0,21
		3. 150 ccm Panseninhalt mit 1,5 g Glucose und 25 ccm Aq. dest. ohne Kreide.	2,134	0,208	1,926	9,74	1	3	19,107 [1]	97,68	2,05	0,26
		4. 150 ccm Panseninhalt mit 1,5 g Kirschgummi, 25 ccm Aq. dest. ohne Kreide.	2,134	0,208	1,926	9,74	1	3	31,483 [1]	90,76	0,34	8,89
		5. Panseninhalt vom Ochsen.	—	—	—	—	Pansengasprobe [2]		18,700	78,00	21,20	0,79
		6. 250 g Panseninhaltfiltrat ohne Zusatz, ohne Gärung, für calorimetrische Verbrennung als Kontrollprobe.	1,040									

[1]) Angewandtes Gas zur Analyse — ohne CO_2 in Gärflüssigkeit.

[2]) Mit Schlundsonde Gasentnahme aus dem Pansen. Doppel-Analyse.

I.

(Versuch in den Oppenheimerschen Gärkölbchen.)

14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Eingedrungene Luft %	Gesamtmenge des entwickelten Gases ccm	Gesamtmenge in der Gasprobe			Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std. gebildet			Relation		
		CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CH_4 ccm	H ccm	CO_2 ccm	$CH_4 : CO_2$	$H : CO_2$	$H : CH_4$
1,77	492,17	478,41 [1])	13,47	0,29	0,54	—	19,20	1 : 35,48	1 : 1649	1 : 46,4
8,49	401,74	383,39 [1])	17,65	0,70	1,15	0,05	24,95	1 : 21,72	1 : 547,7	1 : 25,21
1,65	369,84	363,33 [1])	5,77	0,74	0,38	0,05	23,65	1 : 62,97	1 : 491,0	1 : 7,8
4,96	254,36	238,23 [1])	0,60	15,53	0,04	1,01	15,50	1 : 397	1 : 15,34	1 : 0,038
[2])	—	—	—	—	—	—	—	1 : 3,68	1 : 98,7	1 : 26,8

[1]) CO_2 in Gasmischung zusammen mit CO_2 in Gärflüssigkeit berechnet.

[2]) Analyse ohne Luft berechnet; Relation zwischen N und O in der eingedrungenen Luft gleich 82,11 : 17,18.

Hier hört die Methanbildung so gut wie ganz auf, und statt dessen wird eine erhebliche Menge Wasserstoff gebildet. Die CO_2-Menge ist kleiner als in einem der Versuche mit Glucose. Der Kirschgummi löste sich allmählich während der Gärung; nach Beendigung derselben konnten Buttersäure und höhere Alkohole, dem Geruche nach Butyl- und Amylalkohol. aus der Flüssigkeit abdestilliert werden.

Tabelle II.

Zusammensetzung der angewandten Substanzen.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nummer	Substanz	Nummer der Analyse	Trockene Substanz %	Organische Substanz %	Stickstoff %	Asche %	Gefundene Verbrennungswärme für 1 g cal
1	Panseninhaltfiltrat v. Ochsen	1	1,267	0,407	—	0,86	
		2	1,305	0,425	—	0,88	
		Mittel	1,286	0,416	—	0,87	4,760
2	Asparagin	1	87,97	87,97	20,25	—	3,451
		2	87,98	87,98	20,41	—	3,445
		Mittel	87,97	87,97	20,33[1]	—	3,448
3	Zellulose	1	100,00	100,00	—	—	4,146
		2	—	—	—	—	4,121
		Mittel			—	—	4,133
4	Glucose		99,95	99,95	—	—	3,743[3]
5	250 ccm Panseninhalt		3,215 g	1,040 g	[2]	2,175 g	4,950
6	75 ccm Panseninhalt		0,9645 g	0,312 g	[2]	0,6525 g	1,485

Die Hauptbedeutung dieses Versuchs liegt darin, daß ich die nicht gasförmigen Gärungsprodukte genauer zu bestimmen suchte und speziell deren Verbrennungswärme ermittelte. Die Versuche sind deshalb außerordentlich schwierig, weil es kaum möglich ist, bei der Eindampfung des Gärmaterials Verluste an flüchtigen Substanzen (Alkohol, Aldehyde) zu vermeiden. Äthylalkohol und ihm ähnlich reagierende Substanzen suchte ich dadurch zu bestimmen, daß ich beim Eindampfen der Lösungen die Dämpfe

[1]) Statt theoretisch 21,21% N.

[2]) Proteingehalt 30% der organischen Substanz.

[3]) Glucose mit Marke von Kahlbaum ist nicht analysiert.

durch eine Chromsäure-Schwefelsäuremischung leitete, deren Reduktion zur Berechnung des Alkohols diente. Auf diese Weise fand ich für den halben Inhalt des Gärkolbens in Versuch 3 (Glucose ohne Kreide) 25 cal als Äquivalent der alkoholartigen Stoffe und in Versuch 1 41 cal. Nur diese beiden von den vier Versuchen konnten einigermaßen befriedigend zu Ende geführt werden. Doch leidet das Endergebnis noch unter dem Umstande, daß bei der Verbrennung der an anorganischem Material sehr reichen, eingetrockneten Massen in der calorimetrischen Bombe kleine Kohlenpartikel in der Asche blieben, so daß speziell die Verbrennungen der fertig vergorenen Proben zu niedrige Werte ergaben. Der auf diese Weise gefundene Gärverlust stellt also einen Maximalwert dar. Die analytischen Belege sind in Tabelle II und III zusammengestellt; sie bedürfen keines weiteren Kommentars. Die Resultate lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Das Gärmaterial der Probe 3 lieferte:	
vor der Gärung verbrannt	4312 cal
nach der Gärung unter Zurechnung der 25 cal aus dem gebildeten Alkohol .	3653 „
also Gärverlust	659 cal.
Hiervon entfallen:	
auf die ausgeschiedenen 8,8 ccm CH_4 [1]) .	83,6 cal
auf die 0,35 ccm H_2	1,0 „
	84,6 cal.

Es wurden also 659 — 84,6 = 574,4 cal als Gärungswärme abgegeben. Da gleichzeitig 181,7 ccm CO_2 gebildet wurden, würden auf jeden Kubikzentimeter dieses Gases 3,16 cal entfallen. Bei Versuch 1 waren die entsprechenden Daten:

Verbrennungswärme vor der Gärung . .	6595,2 cal
nach der Gärung (inkl. Alkohol) .	5534,3 „
Gärverlust	1060,9 cal.
Hiervon entfallen:	
auf 6,74 ccm CH_4	64,0 cal
auf 0,14 ccm H_2	0,4 „
	64,4 cal.

[1]) 1 g/Mol CH_4 = 212,72 Cal (Landolt-Boernstein, 4. Aufl., S. 909) also 1 ccm = 9,501 cal.

Tabelle III.

Verbrennungswärme der angewandten Substanzen vor und nach Gärung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Nr. des Versuchs	Nummer der Verbrennungsprobe	Angewandte Menge der Substanzen in Gramm						Berechnete Verbrennungswärme angew. Substanzen vor Gärung in Calorien					Gefundene Verbrennungswärme angew. Substanz. m. gebild. Alkoh. nach Gärung		Gefundene Menge der Alkohole bei der Gärung		Verlust der Energie bei der Gärung	
		Organische Substanz von Panseninhalt	Glucose	Asparagin	Zugesetzte Cellulose	Asche von Panseninhalt	Calciumcarbonat	Organische Substanz von Panseninhalt	Glucose	Asparagin	Summa	Zuges. Cellulosemenge z. Verbrennung	mit Cellulose	ohne Cellulose	in g	in Cal.	in Cal.	in %
1	1. Hälfte	0,312	0,7546	0,663	0,6825	0,6525	1,000	1,485	2,824	2,286	6,595	2,821	8,306	5,485	0,0058	41,0	1,110	16,83
	2. Hälfte	0,312	0,7546	0,663	0,6451	0,6525	1,000	1,485	2,824	2,286	6,595	2,666	8,250	5,584	0,0058	41,0	1,011	15,33
	Mittel													5,534			1,061	**16,08**
3[1]	1. Hälfte	0,312	0,7555	—	0,7625	0,6525	1,000[3]	1,485	2,827	—	4,312	3,152	6,770	3,618	0,0035	24,8	0,694	16,10
	2. Hälfte	0,312	0,7555	—	0,8476	0,6525	1,000[3]	1,485	2,827	—	4,312	3,503	7,191	3,688	0,0035	24,8	0,624	14,47
	Mittel													3,653			0,659	**15,28**
6[2]	1. Hälfte	1,040	—	—	0,751	2,175	—	4,994	—	—	4,994	3,1042	—	—	—	—	—	—
	2. Hälfte	1,040	—	—	0,7995	2,175	—	4,905	—	—	4,905	3,3046	—	—	—	—	—	—
	Mittel							4,950			4,950							

[1]) 2. Versuch verloren.

[2]) 4. Versuch mit Kirschgummi ohne calorimetrische Bestimmungen. — 6. Versuch mit 250 ccm Panseninhalt; ohne Zusätze und ohne Gärung als Kontrollprobe verbrannt.

[3]) 2,000 $CaCO_3$ zugesetzt vor der Destillation vom Alkohol.

Es bleiben 996,5 cal Gärungswärme auf 273,2 ccm gebildete CO_2, also auf 1 ccm CO_2 3,65 cal. Diese letztere Zahl kommt schon demjenigen Wert nahe, der bei vollständiger Verbrennung der Kohlenhydrate pro Kubikzentimeter Kohlensäure resultiert. Es ist also sicher die Gärungswärme in beiden Versuchen viel zu hoch gefunden worden. Die Ursache hierfür habe ich vorher schon dargelegt. Es können also diese Versuche nur als obere Grenzwerte für den Gärverlust in Betracht kommen. Wir werden später sehen, daß er bei normalem Ablauf der Gärung sehr viel niedriger ist. Endgültige Resultate werden sich wohl nur durch direkte Calorimetrie der Gärung, in der Art, wie Rubner dieselbe durchgeführt hat, gewinnen lassen. Mit Versuchen dieser Art bin ich augenblicklich beschäftigt.

II. Methodische Verbesserung der Gärversuche.

Gerade die zuletzt ausgeführten Versuche zeigen, wie ungemein leicht der Charakter der Gärung bei Fortführung derselben außerhalb des Körpers umschlägt. Die gleichzeitig mit den vorher besprochenen 4 Gärproben entnommenen Proben des Pansengases ergaben nämlich eine so abweichende Zusammensetzung, daß kaum daran gezweifelt werden kann, daß die Gärung in den Kölbchen eine abnorme war. Daß letztere im Verhältnis zum Methan mehr Kohlensäure liefert, erklärt sich ja teilweise daraus, daß aus dem Pansengas, wie anderweitige Versuche unzweifelhaft zeigen, erhebliche Mengen von Kohlensäure, aber nur wenig Methan durch die Wand hindurch in das Blut diffundieren. Aber diese Verschiebung in der Zusammensetzung des Pansengases kann keinesfalls so bedeutend sein, um sie als Erklärung für den Befund heranzuziehen. Man wird vielmehr daran denken müssen, daß die Vorbereitung des Gärungsversuchs, bei der das Gärmaterial vorübergehend stark abgekühlt und mit der Luft in Berührung gebracht wird, störend einwirkt, daß ferner im Laufe des langdauernden Gärversuchs die Reaktion der Flüssigkeit durch die fortdauernde Bildung flüchtiger Fettsäuren mehr und mehr modifiziert wird, daß ferner die Tension der CO_2 in der Gärlösung viel höhere Werte annimmt als je im Panseninhalt. Die meisten dieser Schädigungen konnten dadurch vermieden werden, daß ich auf Vorschlag von Prof. Zuntz eine Methode der Unter-

suchung adoptierte, die sich schon früher bei den von Zuntz und Hagemann ausgeführten Studien über die Gärung im Blinddarm- und Coloninhalt der Pferde bewährt hatte. Diese Methode besteht in der Verwendung der großen Blutkolben der Pflügerschen Blutgaspumpe als Gärraum. Weitere Fehler konnten durch schnelleres und massenhafteres Gewinnen des Panseninhalts vermieden werden. Zu diesem Behufe bediente ich mich in den folgenden Versuchen einer Schlundsonde aus Durit von viel größerem Querschnitt, als ich sie bisher angewendet hatte (20 mm lichter Durchmesser, 28 mm äußerer Durchmesser). Diese Sonde wurde in der durch Fig. 1 erläuterten Weise mit einer

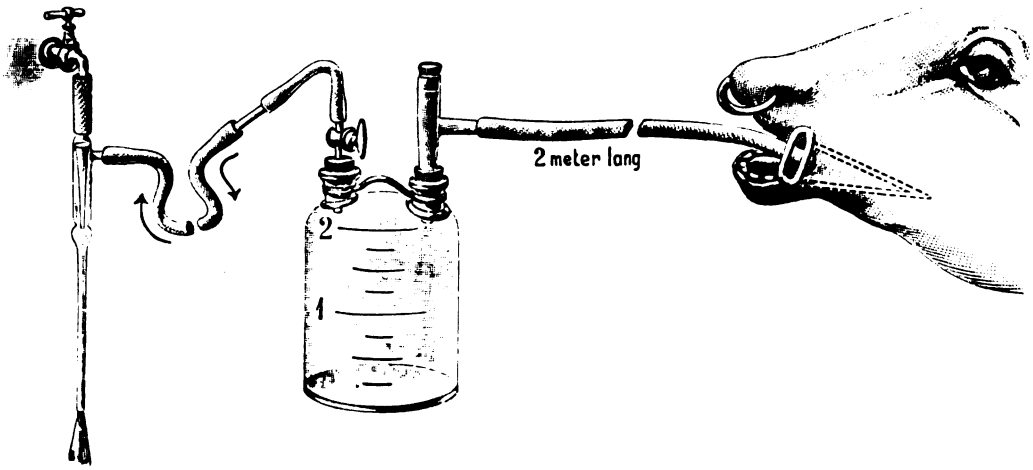


Fig. 1.

großen Woulffschen Flasche verbunden, an deren anderem Tubus ein Schlauch zu einer kräftigen Wasserstrahlpumpe führte. So konnte eine sehr starke Saugwirkung erzielt werden, wobei es nur selten nötig war, Verstopfungen der Sonde durch festere Inhaltsmassen mit Hilfe des Mandrins zu beseitigen. Meist genügte es, die Sonde ein wenig auf und ab zu schieben, um gelegentlich eine Portion Pansengas als Reinigungsmittel durch die Sonde gehen zu lassen. Meist konnten schon nach wenigen Minuten $3^1/_2$ bis 4 Liter Panseninhalt für die Versuche gewonnen werden. Neben der Sonde floß stets reichlich Speichel aus dem Maul des Tieres, der ebenfalls häufig zur Untersuchung, speziell zur Bestimmung seines Gehalts an Carbonaten resp.

Alkalien, benutzt wurde. Von dem so gewonnenen Panseninhalt wurden möglichst schnell Proben in die drei zur Verfügung stehenden Blutgaspumpen eingefüllt. Durch Abwägung auf einer Tarierwage wurde dafür gesorgt, daß in den einzelnen Proben annähernd gleiche Mengen Material zur Verwendung kamen. Nach Beendigung des Versuchs fand dann eine genauere Analyse dieses Materials, Bestimmung seines Gehalts an Trockensubstanz, Organischem und Stickstoff statt. In einem Teil der Versuche wurde Sorge getragen, daß das in den Gärkolben eingefüllte Material annähernd gleichmäßig durchgemischt war, d. h. ungefähr so viel feste Substanz enthielt wie der Panseninhalt als solcher. In anderen Fällen wurde das Ausgeheberte in 2 Teile geteilt, indem in einem Gärkolben die Flüssigkeit, in einem anderen der wasserärmere Brei der Gärung unterworfen wurde. Wie in den früheren Versuchen wurde auch vielfach der Einfluß von Zusätzen zum Panseninhalt untersucht. Dann fand sich stets in einem der Gärkolben der reine Panseninhalt, in den beiden anderen derselbe mit gewogenen Zusätzen.

Um den Gärversuch möglichst schnell nach der Entnahme des Panseninhalts beginnen zu können, war es von großer Bedeutung, daß man die Gärkolben unmittelbar nach ihrer Beschickung mit Hilfe der Vakuumleitung des Instituts bis auf annähernd die Spannung des Wasserdampfes innerhalb einer einzigen Minute evakuieren konnte. Die ganze Anordnung ist aus Fig. 2 ersichtlich, in der die Blutgaspumpe, die Verbindung derselben mit der Vakuumleitung und die Vorrichtung zur Abtrennung der meist in großem Überschuß vorhandenen Kohlensäure von den übrigen Gärungsgasen dargestellt ist. Diese Abtrennung, die nur vorgenommen wurde, wenn die Gasmengen sehr groß waren, vollzieht sich in der Weise, daß die im Vakuum der Pumpe *b* gesammelten Gase durch die Kugel *c* in das mit Quecksilber gefüllte Sammelrohr bei *d* übergetrieben werden. Von hier wird dann das Gas langsam durch Chlorcalcium, zwei Natronkalkröhren und ein zweites vorgelegtes Chlorcalciumrohr in die Kugel *m* hinübergesaugt. Die hierbei quantitativ absorbierte CO_2 ergibt sich aus der Wägung der beiden Natronkalkröhren und des diesen vorgelegten Chlorcalciumrohres. Der Rest des Gases, der neben eingedrungenen Spuren atmosphä-

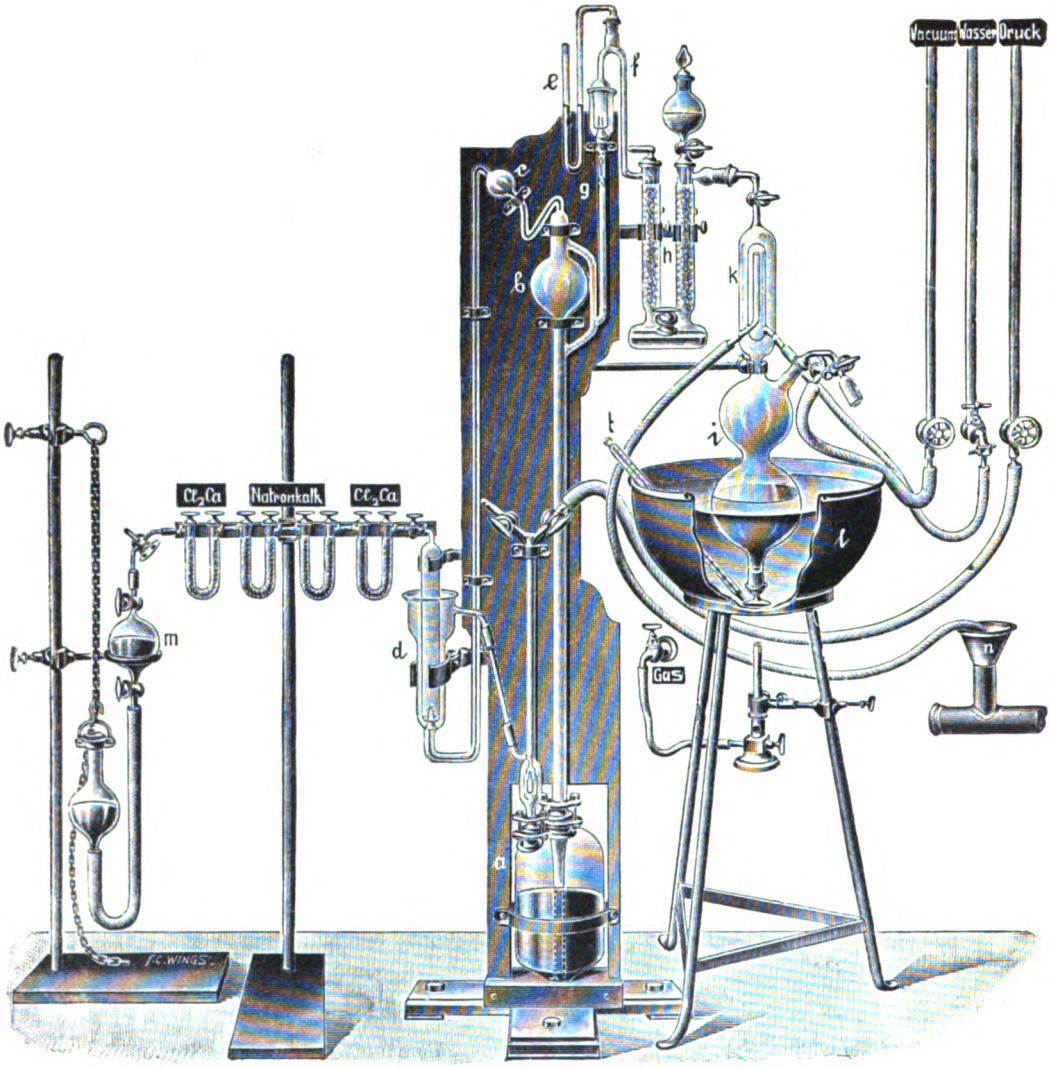


Fig. 2.

rischer Luft aus Methan und Wasserstoff zu bestehen pflegt, wird in der Kugel *m* oder bei geringeren Mengen in einem zylindrischen Rohr von etwa 120 ccm Inhalt genau gemessen und dann in dem modifizierten Haldaneschen Gasanalysenapparat, der in dieser Zeitschr. **34**, 213 beschrieben und abgebildet ist, analysiert. Die hier benutzte Gaspumpe ist in ihrer Verwendung für

die Analyse der Blutgase seit längerer Zeit im hiesigen Institut im Gebrauch. Sie wurde von Loewy in Oppenheimers Handb. d. Biochemie 4, 1, S. 18 beschrieben und abgebildet. Damals benutzte man noch eine Verbindung des Toricellischen Vakuums mit einer Füllkugel durch Zwischenschaltung eines längeren Schlauches. Es wurde also das Vakuum durch abwechselndes Heben und Senken der Füllkugel erzeugt. Diese Methode hat den Nachteil, daß das Quecksilber durch Substanzen, die aus dem Schlauche stammen, speziell durch die Schwefelverbindungen desselben verunreinigt wird und infolgedessen leicht in dem engen Teil der Rohrleitung klebt. Diese Fehler fallen vollständig weg bei der jetzigen Einrichtung, die Professor Zuntz in dem neuen Institut zur Aufstellung gebracht hat. Wie die Figur zeigt, mündet das Steigrohr der Toricelli-Kugel *b* in einer größeren Flasche mit Quecksilber *a*, in die ein mit 2 Hähnen versehenes Glasrohr eingepaßt ist. Der eine dieser Hähne kommuniziert mit der Druckleitung des Instituts, der andere mit der freien Luft. Wenn letzterer geschlossen ist, kann man in dem Luftraum der Flasche genügenden Überdruck erzeugen, um das Quecksilber in die Kugel *b* und weiterhin unter Verdrängung des im Vakuum befindlichen Gases nach *d* überzutreiben. Sobald das Gas übergetreten ist, wird der Druckhahn geschlossen und die Kommunikation mit der Luft hergestellt. Dann sinkt das Quecksilber in die Flasche zurück und der Raum *b* ist luftleer. Die Verbindung von *b* mit dem Gärkolben *i* erfolgt unter Zwischenschaltung der Trockenröhre *h*, die mit Schwefelsäure getränkten Bimstein enthält, und des Schliffstückes *f*. Unterhalb dieses Schliffstückes ist bei *g* in das Verbindungsrohr ein als Ventil wirkender beweglicher Glaskonus eingeschmolzen, durch den ein Übersteigen des Quecksilbers nach *f* verhütet wird. Dieser Konus schließt ohne jede Schmierung, so daß also das Quecksilber nirgends mit Fett in Berührung kommt. Das beim Pumpen überschüssig nach *d* gelangende Quecksilber fließt automatisch durch das im oberen Ende von *a* gezeichnete Ventil in die Flasche *a* zurück, sobald in *a* kein Überdruck besteht. Der obere Teil des Gärkolbens *i* enthält einen Kühler, durch den ständig ein lebhafter Wasserstrom fließt. Dadurch wird bewirkt, daß sich die Gärgase in dem kühlen Raum ansammeln und von hier leicht durch kurzes

Öffnen des Verbindungshahnes nach *h* und weiter nach *b* übergetrieben werden können. Die Pumpe und die zahlreichen Schliffe am Gärkolben und den Schwefelsäureröhren schließen so dicht, daß auch bei mehrtätiger Gärung kein beachtenswertes Eindringen von Luft stattfindet. Der am Gärkolben eingeschliffene Hahn, der in der Figur mit der Vakuumleitung durch einen Druckschlauch verbunden ist, dient dazu, während des Versuches beliebige Flüssigkeiten in den Gärkolben einzusaugen, ohne daß mehr als Spuren von Luft damit eintreten. In dieser Weise konnten in irgendeiner Phase der Gärung Zuckerlösungen, Amide, Alkalien oder Säuren dem gärenden Gemisch zugesetzt werden.

Bei dieser Einrichtung war es auch leicht möglich, die bei der Gärung entwickelte Kohlensäure auf die beiden in Betracht kommenden Quellen derselben, zersetzte Carbonate und aus organischer Substanz entwickelte Kohlensäure, zurückzuführen. Man braucht nur in einer besonderen Portion des Gärgemisches den Anfangsgehalt an Carbonaten durch Auspumpen unter Schwefelsäurezusatz zu bestimmen und das gleiche in dem eigentlichen Gärgemisch zu machen, nachdem dasselbe eine bestimmte Zeit unter quantitativer Auspumpung der Gase gegoren hatte. Das Minus an Kohlensäure, das die Schwefelsäure im letzteren Falle entbindet, entspricht den durch Gärungssäuren zersetzten Carbonaten. Nach diesen Vorbemerkungen werden die folgenden Tabellen, welche die Ergebnisse der Gärversuche enthalten, leicht verständlich sein.

Da ich alle drei zur Verfügung stehenden Pumpen zu vergleichenden Gärungsversuchen benutzte, mußte die Carbonatbestimmung in dem zur Gärung benutzten Material bis zum folgenden Tage aufgehoben werden. Die hierzu bestimmte Probe wurde entweder gleichzeitig mit Beginn des Gärungsversuchs in einem Glaskolben durch längeres Kochen im Wasserbad sterilisiert oder sofort in Eis gestellt, am anderen Tage in die Pumpe gebracht, ohne Erwärmen rasch evakuiert und dann mit verdünnter Schwefelsäure im Übermaß versetzt.

III. Gärversuche in der Blutgaspumpe.

Tabelle IV enthält die ersten nach dem geschilderten Verfahren durchgeführten Versuche, bei denen die während der

Gärung aus Carbonaten freigemachte Kohlensäure noch nicht bestimmt wurde. Im letzten Versuch dieser Reihe Nr. 7 wurde zum ersten Male nach beendeter Gärung die gebundene Kohlensäure durch Schwefelsäure ausgetrieben. Man sieht, daß sie auch nach mehrstündiger Gärung noch sehr erheblich ist, daß also die gebildeten Fettsäuren noch lange nicht die aus dem Speichel stammenden Alkalivorräte neutralisiert haben. Zugleich ergibt ein Vergleich des ersten dieser 3 Versuche, in welchem dem Gärgemisch 3 g Rohrzucker zugefügt waren, mit den beiden anderen, daß von der enormen, durch den Zucker bedingten Mehrentwicklung von CO_2 ein sehr erheblicher Teil aus den Carbonaten stammt. Um diesen Anteil etwas genauer festzustellen, wollen wir die am Ende der Gärung ausgetriebene Kohlensäure auf gleiche Mengen (10 g) organischer Pansensubstanz beziehen; dann hätten wir beim

Gärungsversuch ohne Zusatz . .	$\frac{868,5}{1,8152}$	= 478,5 ccm CO_2,
„ mit Peptonzusatz	$\frac{819,1}{1,59^{1})}$	= 515,1 ccm CO_2,
	Mittel	496,8 ccm CO_2.
„ mit Zucker . .	$\frac{509,6}{1,9263^{1})}$	= 264,6 ccm CO_2,
also im Zuckerversuch mehr ausgetrieben		232,2 ccm CO_2.

Wenn wir in entsprechender Weise die ganze während der $3^1/_4$ bis $3^1/_3$ Stunde dauernden Gärung gewonnene Kohlensäure auf 10 g organische Substanz beziehen, so bekommen wir

für den Versuch ohne Zusatz . . .	124,8 ccm CO_2,
„ „ „ mit Pepton . . .	140,0 ccm CO_2,
Mittel	132,4 ccm CO_2,
„ „ „ mit Zucker . . .	282,2 ccm CO_2,
also mehr mit Zucker	149,8 ccm CO_2.

Das Plus an CO_2 im Zuckerversuch stammt also ganz und gar aus den Carbonaten, ja es scheint sogar, als ob die aus Kohlenhydrat abgespaltene CO_2 durch den Zuckerzusatz zum Gärgemisch abgenommen hätte und dafür sehr viel mehr nicht

[1]) Nach Abzug der zugesetzten 3 g Pepton bzw. Zucker.

Tabelle IV. Gärungsversuche mit Panseninhalt

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres und Zeit der Panseninhalt-Probeentnahme	Gärungs-substanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organischen Substanz	Nummer der Gasprobe	Dauer der Gärung bei 38°	Angewandte Gasmenge ccm
1 1912 2. III.	6,5 kg Heu, 2 kg Schrot, 20 kg Rüben. Probenahme mit enger Sonde ohne Wasserstrahlpumpe	446,5 g Panseninhalt vom Ochsen ohne Zusatz	3,372	0,864	2,508	25,62	1 2	2h 3h	35,590 38,385
2 8. III.	7 kg Heu, 2 kg Schrot, 25 kg Rüben, 20 g Salz. 10h vorm. Probeentnahme mit enger Sonde ohne Wasserstrahlpumpe	214 g Panseninhalt vom Ochsen ohne Zusatz	5,071	1,587	3,484	31,30	1 2 3	1h 30′ 2h 1h 20′	15,230 14,790 17.940
3 18. III.	7 kg Heu, 2 kg Schrot, 2 kg Leinkuchen, 25 kg Rüben, 20 g Salz. 11h vorm. Probeentnahme mit Duritsonde und Wasserstrahlpumpe	296 g breiförmiger Panseninhalt vom Ochsen	5,859	1,530	4,329	26,13	1 2 3	2h 1h 30′ 30′	18,980 19,180 10,150
		349 g Filtrat vom Panseninhalt	3,740	1,207	2,533	32,29	1 2	2h 2h	17,650 19,120
6 20. IV.	7 kg Heu, 4 kg Schrot, 2 kg Leinkuchen, 20 g Salz. 11h 30′ vorm. Probeentnahme	481 g Panseninhalt mit 3 g Rohrzucker und 5 g Kreide	10,480	2,722	7,758	25,97	1 2	1h 1h	19,660 19,240
		405 g Panseninhalt ohne Zusatz	9,952	2,488	7,464	25,00	1 2	1h 1h	18,480 18,740
		631 g Panseninhalt mit 5 g Kreide	15,307	3,680	11,627	24,04	1 2	1h 1h	19,120 19,130
7 30. IV.	7 kg Heu, 3 kg Schrot, 2 kg Leinkuchen, 20 g Salz. 10h 30′ vorm. Probeentnahme	745 ccm Panseninhalt mit 3 g Rohrzucker	22,263	4,150	18,113	18,64	1 2	1h 12′ 2h 03′	19,700[1] 19,810 19,780
		775 ccm Panseninhalt ohne Zusatz	18,152	3,495	14,657	19,25	1 2	1h 15′ 2h 05′	19,730 19,600
		700 ccm Panseninhalt mit 3 g Pepton	18,900	5,830	13,070	30,85	1 2	1h 20′ 2h	19,810 19,490

[1]) Doppelanalyse. — [2]) CO_2 in Carbonaten nach Gärung.

vom Rind. (Erste Versuche mit der Pumpe.)

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Zusammensetzung der entwickelten Gase			Eingedrungene Luft	Gesamtmenge des entwickelten Gases	Gesamtmenge in der Gasprobe			Gesamtmenge in der Gärprobe		Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std. gebildet			Relation zwisch. CH_4 und CO_2 ($CH_4 = 1$ gesetzt)	CO_2 in Carbonaten
CO_2 %	CH_4 %	H %	%	ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CH_4 ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CO_2 ccm		ccm
97,57	1,77	0,65	32,64	35,43	34,57	0,63	0,23							
99,41	0,28	0,30	1,62	104,70	104,08	0,30	0,32	0,93	138,65	0,55	0,32	82,24	1 : 149	—
				5 Std.:	138,65	0,93	0,55							
85,65	9,98	4,35	0,86	59,76	51,19	5,97	2,60							
86,72	9,77	3,51	8,54	83,28	72,22	8,14	2,92							
88,00	9,49	2,50	16,38	36,51	32,14	3,46	0,91	17,57	155,55	7,17	2,64	63,46	1 : 8,85	—
				4 Std. 50 Min.:	155,55	17,57	6,43							
89,90	8,50	1,60	27,61	73,92	66,46	6,28	1,18							
92,75	6,35	0,89	8,54	93,30	86,52	5,94	0,84							
93,54	6,13	0,32	1,53	11,66	10,91	0,71	0,04	12,93	163,89	5,51	0,87	69,93	1:12,67	—
				4 Std.:	163,89	12,93	2,06							
98,60	1,16	0,23	2,14	50,87	50,16	0,59	0,12							
99,80	0,20	—	1,04	34,25	34,18	0,07	—	0,66	84,34	0,44	—	56,38	1:127,8	—
				4 Std.:	84,34	0,66								
85,71	11,66	2,62	0,00	153,60	131,65	17,92	4,03							
83,27	15,28	1,44	0,44	382,25	318,30	58,42	5,53	76,34	449,95	36,42	4,56	214,67	1:5,89	—
				2 Std.:	449,95	76,34	9,56							
90,21	9,21	0,58	21,36	45,66	41,20	4,20	0,26							
91,10	8,38	0,52	0,00	59,00	53,76	4,94	0,30	9,14	94,96	4,59	0,28	47,71	1:10,39	—
				2 Std.:	94,96	9,14	0,56							
89,77	9,86	0,37	0,78	68,76	61,73	6,78	0,25							
88,41	11,14	0,46	6,03	93,27	82,46	10,38	0,43	17,16	144,19	5,60	0,22	47,10	1:8,40	—
				2 Std.:	144,19	17,16	0,68							
83,76	14,62	1,62	0,27	243,63	204,11	35,82	3,70							
83,78	14,78	1,42	0,44	—	—	—	—							
87,40	12,42	0,18	9,64	388,33	339,41	48,21	0,71	84,03	543,52	11,61	0,60	75,12	1:6,47	509,6*)
				3 Std. 15 Min.:	543,52	84,03	4,41							
89,24	9,73	1,03	0,54	147,78	131,88	14,38	1,52							
84,32	14,70	0,87	2,98	112,24	94,73	16,52	0,99	30,90	226,61	5,11	0,41	37,49	1:7,33	868,5*)
				3 Std. 20 Min.:	226,61	30,90	2,51							
88,46	10,92	0,62	1,15	125,50	111,01	13,71	0,78							
85,08	14,53	0,39	11,82	133,08	113,23	19,34	0,51	33,05	224,24	5,25	0,20	35,63	1:6,78	819,1*)
				3 Std. 20 Min.:	224,24	33,05	1,29							

gasförmige Säuren äquivalent 232,2 — 149,8 = 82,4 ccm CO_2 gebildet worden seien[1]). Man wird daran denken können, daß beim Zuckerzusatz der Charakter der Gärung sich ändert, indem ein Teil des Kohlenhydrats statt in flüchtige Fettsäuren und CO_2 in 2 Moleküle Milchsäure zerlegt wird. Es wäre ferner möglich, daß nicht nur absolut mehr Fettsäuren, sondern auch solche von niedrigerem Molekulargewicht gebildet würden, doch muß das Ergebnis zunächst noch skeptisch betrachtet werden, weil wir nicht ohne weiteres annehmen dürfen, daß die Menge Alkali im Panseninhalt, die ja dem an organischer Substanz armen Speichel entstammt, der gefundenen organischen Substanz proportional ist.

Bei Betrachtung der Tabelle IV fallen die ganz verschiedenartigen Gärungen der beiden ersten Versuche auf trotz fast gleichen Futters. Am 2. III. wurde fast nur CO_2 entwickelt, am 8. III. etwa 10 % des Gases an Methan und daneben reichlich Wasserstoff. An diesen Tagen hatte die Ausheberung mit der engen Schlundsonde und ohne Wasserstrahlpumpe lange gedauert, mehrfache Reinigung der Sonde mit dem Mandrin war nötig und die geringe ausgeheberte Inhaltsmasse war lange Zeit in Berührung mit der Luft und stark abgekühlt, ehe sie in den Gärkolben kam. Dies gab Anlaß, in den späteren Versuchen vom 18. III. die S. 10 beschriebene weite Duritsonde mit Wasserstrahlpumpe anzuwenden, die nicht nur in wenigen Minuten mehrere Liter zutage förderte, sondern auch mehr dickbreiiges Material, so daß man hier mehr darauf rechnen konnte, mit dem normalen Durchschnittsinhalt des Pansens zu tun zu haben. — Wie wichtig auch dies ist, zeigte gleich der Versuch vom 18. III., in dem der breiige Anteil und das Filtrat (durch Gaze) getrennt untersucht wurden. Letzteres zeigte wieder dieselbe abnorme Gärung, wie sie am 2. III. aufgetreten war. Es lieferte im Verhältnis zur Kohlensäure 10 mal weniger Methan, während die Relation zwischen CO_2 und gärender organischer Substanz nicht wesentlich verschieden war.

Der folgende Versuch vom 20. IV. zeigt, daß Zusatz einer größeren Menge Kreide die Gärung nicht merklich beeinflußt,

[1]) Ein analoges Resultat lieferte der später zu veröffentlichende Versuch 25 vom 21. I. 13, wo das 48 Stunden in Eis aufbewahrte Filtrat auch keine Gärungs-CO_2 bildete.

was bei dem hohen Alkaligehalt des Panseninhalts zu erwarten war; ferner zeigt dieser Versuch, wie der schon besprochene vom 30. IV., wie enorm die Gärung durch Rohrzuckerzusatz verstärkt wird. Die Methanbildung, bezogen auf 10 g organische Substanz, ist hier aufs $6^1/_2$fache, die CO_2-Bildung aufs $4^1/_2$fache, die H_2-Bildung gar aufs 20fache erhöht. Mit dieser enormen Wirkung des Zuckers harmoniert die geringere Gärung des unveränderten Panseninhalts am 20. und 30. IV., zu welcher Zeit nur stärkehaltige Futtermittel verabreicht wurden, verglichen mit Versuch 1 bis 3 bei Rübenfutter. Die Gasentwicklung pro 10 g organische Substanz und 1 Stunde beträgt bei normaler Gärung

bei Rübenfutter:	56,38 bis 69,93 ccm,	im Mittel 63,3 ccm	CO_2,
„ mehligem Futter:	37,49 „ 47,71 „	„ „	44,1 „	„
bei Rübenfutter:	7,17 bis 5,51 ccm,	im Mittel 6,34 ccm	CH_4,
	0,87 „ 2,64 „	„ „	1,76 „	H_2,
„ mehligem Futter:	4,59 bis 5,60 ccm,	im Mittel 5,10 ccm	CH_4,
	0,22 „ 0,41 „	„ „	0,30 „	H_2.

Bei Rübenfutter macht sich also eine gesteigerte Gärung bei allen 3 Gasen bemerkbar, am stärksten beim Wasserstoff wie in dem Versuch mit Zuckerzusatz, am wenigsten beim Methan, aber selbst hier macht die Steigerung $24\,^0/_0$ des Wertes aus.

Die ersten ganz nach der vorher geschilderten Technik durchgeführten Versuche sind in Tabelle V zusammengestellt. In dem Versuch vom 9. V. 1912 wurde noch ein bisher nicht benutzter Weg zum Studium der Wirkung von Zuckerzusatz eingeschlagen. Die letzten 3 in Tabelle IV zusammengestellten Versuche hatten gezeigt, daß die Gärung des reinen Panseninhalts innerhalb der ersten 4 Stunden keine erheblichen Änderungen erleidet und daß namentlich die Relation der 3 Gärungsgase zueinander sich nicht wesentlich verschiebt. Deshalb wurde am 9. V. (Tabelle V) zunächst die Gärung des dünnflüssigen und des breiigen Anteils für sich bestimmt und dann in die beiden Gärkolben je 20 g Rohrzucker in 100 ccm Wasser eingelassen. Die Steigerung der Gärung war wie in den früheren Versuchen recht erheblich. Aus Kolonne 16 bis 18 berechnet sich auf 1 Stunde:

a) im Dünnflüssigen ohne Zucker: 25,2 ccm CO_2, 1,44 ccm CH_4, 0,07 ccm H_2;
„ „ mit 20 g „ : 43,7 ccm CO_2, 3,06 ccm CH_4, 1,57 ccm H_2;
b) im Brei ohne Zucker: 80,06 ccm CO_2, 13,15 ccm CH_4, 1,71 ccm H_2;
„ „ mit 20 g „ : 205,9 ccm CO_2, 39,95 ccm CH_4, 15,35 ccm H_2.

Auch der besondere Einfluß des Zuckers auf die Entwicklung von Wasserstoff zeigt sich sowohl im Dünnflüssigen wie im Brei. Der Versuch vom 18. V. läßt den Einfluß der Arabinose auf die Gärung erkennen, doch wurde dieselbe diesmal nicht dem bereits einige Stunden gärenden Gemisch zugefügt, vielmehr wurde gleichzeitig und möglichst rasch nach der Ausheberung eine Portion der dünnflüssigen Masse ohne Zusatz in die eine Pumpe, die andere Portion mit 8,58 g Arabinose in die andere Pumpe gebracht, dadurch konnte auch die Menge der die Carbonate zersetzenden neugebildeten Fettsäuren scharf bestimmt werden. Da die Pansenflüssigkeit fast dieselbe Zusammensetzung hatte wie am 9. V., so können die Ergebnisse unmittelbar verglichen werden. Es wurde pro Stunde entwickelt:

ohne Arabinose: 18,74 ccm CO_2; davon 6,85 ccm aus Carbonaten, 11,90 ccm durch Gärung;
mit „ 61,76 ccm CO_2; davon 34,50 ccm aus Carbonaten, 27,26 ccm durch Gärung.

Es hat also auch hier, wie wir es schon S. 15 für den Rohrzucker fanden, die Bildung der organischen Säuren mehr zugenommen als die von CO_2, indem 5 mal soviel CO_2 aus Carbonaten ausgetrieben wurde, dagegen nur 2,3 mal soviel durch Gärung gebildet.

Für die brennbaren Gase fanden wir folgende Zahlen pro Stunde:

ohne Arabinose: 1,37 ccm CH_4, 0,0 ccm H_2,
mit „ 6,86 „ CH_4, 0,91 „ H_2.

Es ist also die Produktion von CH_4 durch die Arabinose auf das 5 fache gesteigert worden, während sie durch Rohrzucker nur etwas mehr als verdoppelt wurde. Auch darin kommt die Wirkung der Arabinose der des Zuckers nahe, daß sie die Bildung von Wasserstoff begünstigt.

de.

18	19	20	
in	Gesamtmenge in der Gärprobe		Anmerkungen
H	CH_4	CO_2	
ccm	ccm	ccm	
0,16 2,85	8,73	134,85	
3,70 5,35 6,80 5,85	93,00	461,40	
3,18 1,06 4,24	32,01	288,21	
— —	6,41	87,49	
4,14 1,85 2,57 8,56	38,73	292,59	
1,26 1,02 2,28	34,56	194,69	
8,38 2,33 0,71	125,43	438,82	
—	5,02	99,78	
3,32 2,00 5,32	44,00	387,71	

et in Volumzahlen.

nde.

18	19
enge probe	Gesa menge Gärp
H ccm	CH_4 ccm
0,32	
1,07	25,48
1,39	
3,01	
4,28	62,17
7,29	
—	
—	25,59
4,28	
1,17	27,29
5,45	
—	
—	26,41
1,91	
2,32	30,03
4,23	
0,22	
0,35	35,74
0,57	
4,00	
2,21	77,85
6,21	
—	12,63
4,04	41,93

Hierher gehört auch der mit Panseninhalt bei ausschließlicher Verfütterung von Haferstroh angestellte Versuch am 10. XII. 1912 (Tabelle VII). Hier wich die Gärung ganz erheblich von der sonst bei gemischtem Futter beobachteten ab. Das Gärungsgas der dünnflüssigen (speichelreichen) Masse enthielt: 96,05% CO_2 2,59% CH_4 1,35% H.
das des Breies: 98,40% „ 0,59% „ 1,00% „
während wir in den Reihen mit gemischtem Futter von Sommer 1912 unter 26 Bestimmungen folgende Extreme haben:
71,52 bis 95,22% CO_2, 4,78 bis 23,93% CH_4, 0 bis 4,76% H.
Kein einziges Mal findet sich hier aber ein Überwiegen des Wasserstoffs über das Methan, denn in jenem extremen Fall von 4,76% H ist die CH_4-Menge gleich 23,72%. Das Verhältnis der brennbaren Gase zueinander und das Überwiegen der Kohlensäure über diese ist also bei Strohfütterung ähnlich, wie wir es sonst bei Zugabe von Zucker gefunden haben[1]). Ob auch hier die CO_2 im wesentlichen aus Carbonaten stammt, ist in diesem Falle nicht mehr zu sagen, weil die zur Carbonatbestimmung dienenden Proben ein zu niedriges Resultat lieferten, wahrscheinlich, weil beim Sterilisieren dieser Proben sehr lange gekocht wurde und sich dadurch Säuren gebildet hatten[2]).

Mit 3 g Rohzucker versetzt lieferte diese Pansenflüssigkeit insofern eine ungewöhnliche Gärung, als in den ersten 4 Stunden die relative Menge der brennbaren Gase und besonders des Wasserstoffs zunahm, die der Kohlensäure aber unverändert blieb, dann nahm die CO_2-Menge etwas zu und am andern Tage wird kein Wasserstoff mehr gebildet, dagegen 3 mal soviel CO_2 und $3^1/_2$ mal soviel CH_4 als unmittelbar nach dem Zuckerzusatz. In dem ausschließlich Stroh enthaltenden Panseninhalt

---

[1]) Man muß übrigens in der Deutung dieses Versuchs vorsichtig sein. Prof. Zuntz war verhindert, mir wie sonst bei der Abwägung und Einfüllung der Proben in die Gärkolben zu helfen; infolgedessen dauerte die Vorbereitung des Versuchs viel länger, das Material kühlte stark ab und kam in ausgiebigere Berührung mit der Luft.

[2]) Es sei daran erinnert, das beim Kochen von Stroh mit Ätzlaugen sehr erhebliche Mengen von Säuren gebildet werden, derart, daß die verwendete Masse nachher sauer reagiert. Bekanntlich gründet F. Lehmann hierauf sein Verfahren der Nutzbarmachung von Stroh u. dgl. für Fütterungszwecke. Daß im alkalischen Panseninhalt ähnliche Prozesse, namentlich beim Kochen, ablaufen, scheint wohl möglich.

Tabelle

Gärungsversuch 20 vom 10. XII. 1912 mit Panseninhalt vom Rinde bei Die Probenahme erfolgte nachmittags 2 Uhr nach Beendigung eines 24stündigen

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % der organischen Substanz	Nr. d. Gasprobe	Dauer der Gärung bei 38°	Zusammensetzung des Gases			
							CO_2 %	CH_4 %	H %	Eingedrungene Luft %
1. 400 g Filtrat ohne Zusatz	2,960	0,633	2,327	21,38	1	4h	96,05	2,59	1,35	0,59
2. 400 g Filtrat mit **3 g Rohrzucker**	2,960 3,000	0,633	2,327	21,38	1	4h	91,31	3,01	5,67	0,53
	5,960	0,633	5,327	10,62	2	4h	95,19	2,38	2,44	0,75
					3	11h b. 21°	96,77	3,23	—	0,27
					4	4h	95,56	4,38	0,05	0,10
3. 300 g Brei ohne Zusatz	38,82	3,29	35,53	8,47	1	4h	98,40	0,59	1,00	0,63
Nach 4 Std. Zusatz von 1,744 g Na_2CO_3 mit 300 ccm Aq. destillatae					2	4h	100,00[1])	—	—	Spur
					3	11h b. 21°	Spur	—	—	—
					4	4h	100,00	—	—	2,42
4. 400 g Filtrat für CO_2-Bestimmung in Carbonaten — ohne Gärung										
300 g Brei für CO_2-Bestimmung in Carbonaten — ohne Gärung										
Sterilisation durch Kochen										

scheint also der Zucker erst die Bedingungen einer normalen Gärung herbeigeführt zu haben, während er in gewöhnlichem, an löslichen Kohlenhydraten reicherem Panseninhalt die Gärung zwar sehr verstärkt, aber in anormale Bahnen leitet.

Wegen des Einflusses des Zuckers auf die Gärung seien hier auch gleich die Versuche mit Rinderkot vom 26. III. 1912 besprochen (Tabelle VIII). Hier wurde einer geringen Kotmenge, deren Gärung für sich am 23. III. untersucht war, in

[1]) Analyse mit zugesetzter Luft.

VII.

ausschließlicher Fütterung mit täglich 8 kg Haferstroh und ca. 30 l Wasser. Respirationsversuchs, der 217 l CH_4 und keinen Wasserstoff geliefert hatte.

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Gesamtmenge des entwickelten Gases	CO_2	CH_4	H	Gesamtmenge in der Gärprobe		Auf 10 g organische Substanz pro Stunde[3]			CO_2 in Carbonaten	
				CH_4	CO_2	CH_4	H	CO_2	am Anfang der Gärung	am Schluß der Gärung
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
65,52	62,94	1,70	0,88	1,70	62,94	1,43	0,74	53,16	—	459,48
66,48	60,71	2,00	3,77			1,69	3,18	51,27		
						0,84	*1,58*	*25,46*		
76,37	72,69	1,82	1,86			1,53	1,57	61,40		
						0,76	*0,78*	*30,49*		
243,74	235,86	7,88	—			2,42	—	72,44		
						1,20	—	*35,97*		
163,39	156,14	7,17	0,08	18,87	525,40	6,05	0,07	131,80		
						3,01	*0,03*	*65,50*		
106,54	104,84	0,63	1,07	0,63	104,84	0,04	0,07	6,75		
8,30	8,30	—	—			—	—	0,53		
Spur } 18,03	18,03	—	—		131,17	—	—	1,16	—	428,64[2]
									380,33[1]	
									10,00[1]	

einem Falle Roggenschrot, wie es damals zu 2 kg täglich dem Ochsen verfüttert wurde, in gekochtem Zustande, also die Stärke verkleistert, zugesetzt, andererseits die im Kohlenhydratgehalt annähernd äquivalente Menge von 50 g Rüben. — Durch das Kochen waren etwa diesen Stoffen anhaftende Gärungserreger abgetötet.

---

[1]) CO_2-Bestimmung nach Sterilisation durch Kochen.

[2]) Die zugesetzten 1,744 g Na_2CO_3 enthalten 723,9 mg = 369,3 ccm CO_2.

[3]) Die geraden Ziffern geben die Gasmengen auf 10 g organische Substanz des Pansenfiltrats allein, die schrägen auf 10 g organische Substanz einschließlich zugesetztem Zucker.

Tabelle VIII.

Gärungsversuche mit Ochsenkot.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres	Gärprobe Nr.	Gärsubstanz	Gasprobe Nr.	Dauer der Gärung Std.	Angew. Gasmenge ccm	Zusammensetzung der entwickelten Gase			Eingedrungene Luft %	Gesamtmenge entw. Gase ccm	Gesamtmenge in Gärprobe			Relation	
							CO_2 %	CH_4 %	H %			CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CH_4 : CO_2$	$H : CO_2$
5 1912 26. III.	7 kg Heu, 2 kg Schrot, 2 kg Leinkuchen, 25 kg Rüben, 20 g Salz	1	20 g Ochsenkot mit 300 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung und 10 g Schrot, gekocht mit 50 ccm NaCl-Lösung	1	5	13,480	78,01	0,63	21,35	5,85	12,36	9,64	0,08	2,64	1 : 121	1 : 3,65
		2	20 g Ochsenkot mit 300 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung und 50 g Rübenbrei	1	5	17,640	87,31	0,42	12,26	20,01	26,25	22,92	0,11	3,22	1 : 208	1 : 7,12
4 23. III.	Dasselbe	1	150 g Ochsenkot mit 250 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung ohne Zusatz	1	4	18,400	74,12	1,56	24,32	2,47	35,17	26,07	0,55	8,55	1 : 47,4	1 : 3,05
		2	150 g Ochsenkot mit 250 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung und mit 5 g Kreide	1	4	18,950	73,53	2,00	24,47	0,86	41,98	30,86	0,84	10,27	1 : 36,7	1 : 3,00

Wenn wir aus der in der Tabelle VIII angegebenen Gasentwicklung aus 150 g Kot in 4 Stunden:

26,07 ccm CO_2, 0,55 ccm CH_4, 8,55 ccm H

umrechnen auf 20 g Kot und 5 Stunden, haben wir die Zahlen

4,35 ccm CO_2, 0,09 ccm CH_4, 1,43 ccm H,

dagegen lieferten die 20 g Kot mit Schrot:

9,64 ccm CO_2, 0,08 ccm CH_4, 2,64 ccm H

und mit Rüben

22,92 ccm CO_2, 0,11 ccm CH_4, 3,22 ccm H.

Die Steigerung beträgt also für das Schrot:

$+$ 5,29 ccm CO_2, $-$ 0,01 ccm CH_4, $+$ 1,21 ccm H_2

für die Rüben:

$+$ 18,52 ccm CO_2, $+$ 0,02 ccm CH_4, $+$ 1,79 ccm H_2.

Das Methan spielt bei dieser Kotgärung außerhalb des Körpers nur eine untergeordnete Rolle und wird fast ganz durch Wasserstoff verdrängt, ein Resultat, das mit meinen älteren Erfahrungen[1]) und denen von Zuntz und Hagemann harmoniert. Es ist also auch bei der verbesserten Methode der Gärung in der Blutgaspumpe mit Mastdarminhalt nicht dieselbe Gärung wie im lebenden Darm zu erzielen. Ich hatte damals im Mastdarmgas desselben Ochsen, der zu diesem Versuche diente, 26mal mehr CH_4 als H_2 gefunden. — Ich komme auf diese Verhältnisse bei Besprechung der Gärung in den einzelnen Abschnitten des Verdauungskanals zurück.

Weitere Beiträge zur Aufklärung über die Bedingungen der Pansengärung und zur Frage, welche Stoffe dabei angegriffen werden, liefern die in Tabelle IX zusammengestellten Versuche. Die mit Pansenflüssigkeit und -brei ohne weitere Zusätze angestellten Versuche passen durchaus in den Rahmen der vorher mitgeteilten, die im Anschluß an Tabelle X noch genauer analysiert werden sollen. Abweichend ist nur, daß in Versuch 21 die Methanbildung pro Gramm organische Substanz im Brei etwas höher ist als im dünnflüssigen Anteil. Die Bestimmung der Carbonatkohlensäure ist wie in einigen anderen Versuchen (vgl. die Erklärung hierfür S. 21) mißglückt,

---

[1]) Vgl. Markoff, diese Zeitschr. 34, 225, Tab. II.

Tabelle IX. Gärungsversuche m

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres und Zeit d. Panseninhalt-Probeentnahme	Gärungssubstanz g	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organ. Substanz	Nr. der Gasprobe	Dauer d. Gärung bei 38° C	Angewandte Gasmenge ccm	Zusammensetzung der Gase CO_2 %	CH_4 %	H %
21 1912 16. XII.	4 kg Haferstroh, 2,5 kg Melasse, 1 kg Kleber und 20 g Salz Um 12h 30′ nm. Panseninhalt-Probeentnahme	400 g Filtrat ohne Zusatz	2,823	0,850	1,973	30,12	1	4h 40′	19,930	93,23	6,77	—
							2	4h	18,980	95,32	4,67	—
		400 g Filtrat mit 3 g Rohrzucker in 25 ccm Aq. dest.	2,823 +3,000 = 5,823	0,850	1,973 4,973	14,60	1a	4h 40′	19,790	86,70	13,05	0,
							1b		19,800	87,56	12,44	0,
							2	4h	19,400	73,34	25,26	1,
		270 g Brei mit 100 g Filtrat	42,740	6,823	35,917	15,96	1a	4h 15′	19,640	75,97	21,27	2,
							1b		19,600	78,32	19,91	1,
							2	4h	19,710	72,70	23,06	4,
		400 g Filtrat für CO_2-Bestimmung i. Carbonaten, ohne Gärung	2,823	0,850	1,973	30,12						
22 1912 28. XII.	4 kg Haferstroh, 2,5 kg Melasse, 1 kg Kleber und 20 g Salz Um 12h 45′ nm. Panseninhalt-Probeentnahme	400 g Filtrat ohne Zusatz	3,232	0,990	2,242	30,62	1	4h	20,080	91,11	8,89	—
							2	4h	19,495	89,85	10,15	—
		400 g Filtrat mit 3 g Natriumacetat in 20 ccm Aq. dest.	3,232	0,990	2,242	30,62	1	4h	19,580	89,95	10,04	—
							2	4h	19,600	89,84	9,86	0,
							3	14h [1]	—			
							4	4h	19,340	89,06	10,94	—
		Etwa 400 g Filtrat ohne Zusatz f. Gärung im Kjeldahl-Kolben	3,232	0,990	2,242	30,62	1	8h	19,570	86,73	13,27	—
		400 g Filtrat ohne Gärung für CO_2-Bestimmung in Bicarbonaten und Carbonaten in frischem Zustand, ohne Kochen	3,232	0,990	2,242	30,62						
23 1912 30. XII.	4 kg Haferstroh, 2,5 kg Melasse, 1 kg Kleber und 20 g Salz Um 12h 20′ nm. Panseninhalt-Probeentnahme	400 g Filtrat ohne Zusatz	2,190	0,575	1,615	26,25	1	5h	19,750	92,60	7,40	—
		400 g Filtrat mit 3 g Natriumbutyrat	2,190	0,575	1,615	26,25	1	5h	19,310	91,77	8,23	—
							2	18h [2]	—			
							3	4h	19,200	89,57	10,25	0,
		400 g Filtrat (2. Probe) ohne Gärung, ohne Kochen, für CO_2-Bestimmung in Carbonaten u. Bicarbonat.	2,190	0,575	1,615	26,25						

[1]) bei 20° C. [2]) Bei 21° C. [3]) CO_2-Bestimmung nach Sterilisation mit Kochen. [4]) Doppel-Analys

Panseninhalt vom Rinde.

14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Eingedrungene Luft	Gesamtmenge des entwickelten Gases	CO_2	CH_4	H	Gesamtmenge in Gärprobe		Ausgeschiedene CO_2-Menge aus den Carbonaten	Entwickelte CO_2-Menge bei der Gärung	Relation zwischen:			Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std.			CO_2 in Carbonaten	
					CH_4	CO_2			CH_4 u. Gärungs-CO_2	CH_4 u. CO_2 ausgesch. aus d. Carbonat.	CO_2 aus den Carbonaten u. Gär.-CO_2	CH_4	H	CO_2	am Anfang der Gärung	am Schluß der Gärung
					$CH_4 = 1$ gesetzt											
%	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm				ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
0,91	63,48	59,18	4,30	—								3,26	—	44,92		
1,44	29,64	28,26	1,38	—								1,21	—	25,00		
					5,68	87,44						**2,23**	—	**34,96**		339,26
0,25	245,55	212,90	32,03	0,62												
—	299,86	261,78	37,18	0,90												
					69,21	474,68						**25,47**	**0,56**	**174,70**		
0,61	65,47	48,02	16,54	0,91								7,10	0,39	20,61		
					85,75	522,70										0,010
1,00	165,50	125,74	35,20	4,56												
0,69	234,59	183,72	46,70	4,17												35,19
					81,90	309,46						**4,51**	**0,48**	**17,03**		
—	176,73	128,50	40,75	7,48								2,38	0,43	7,51		
					122,65	437,96										
															304,47[3])	
10,22	53,20	48,48	4,72	—								3,65	—	37,49		
25,52	33,10	29,74	3,36	—								2,60		23,00		
					8,08	78,22	67,25	10,97	1:1,35	1:8,32	1:6,13	**3,12**		**30,24**	351,25	284,00
0,33	71,71	64,51	7,20	—								5,57		49,90		
0,91	38,06	34,20	3,75	0,11								2,90	0,09	26,45		
					10,95	98,71						**4,23**		**38,17**		
	etwa 1,0															
1,21	34,37	30,61	3,76	—								2,90		23,68	351,25	258,93
					14,71	129,32	92,32	37,00	1:2,51	1:6,27	1:2,5	**3,79**		**33,34**		
4,48	135,76	117,73	18,03	—	18,03	117,73						6,97		45,53		284,74
															351,25	—
0,21	74,11	68,63	5,48	—	5,48	68,63	52,70	15,93	1:2,90	1:9,60	1:3,30	5,01	—	62,68	367,44	314,74
0,28	64,23	58,95	5,28	—								4,83	—	53,84		
	etwa 1,0															
0,48	32,75	29,34	3,35	0,06								3,83	—	33,50		
		88,29	**8,63**		8,63	88,29	58,93	29,36	1:3,40	1:6,82	1:2,00	**4,33**		**43,67**	367,44	308,51
															367,44[4])	—

indem die durch Kochen sterilisierte Probe weniger Kohlensäure enthielt als die Flüssigkeit, welche $8^2/_3$ Stunden gegoren hatte. Versuch 21 bestätigt die enorme Verstärkung der Gärung durch Rohrzucker, indem die Methanbildung aufs 8 fache, die von CO_2 aufs 4 fache anwächst. Der größere Teil der Mehrausscheidung von Kohlensäure enstammt den Carbonaten, die im Laufe von $8^2/_3$ Stunden vollständig zersetzt wurden. Von den gegenüber der Gärung der unvermischten Pansenflüssigkeit mehr gelieferten 435,26 ccm CO_2 entstammen 339,16 ccm den Carbonaten und nur 96,1 ccm den organischen Körpern. — Weiter sollten diese Versuche darüber Aufschluß geben, ob die bei der Gärung gebildeten Fettsäuren auch ihrerseits durch die Gärungsorganismen angegriffen werden, oder ob sie unter allen Umständen ganz der Ernährung des Tieres zugute kommen.

Ältere Untersuchungen dieser Frage liegen vor von Popoff[1]) aus Hoppe-Seylers Laboratorium und von diesem selbst[2]). Popoff fand, daß ameisensaurer Kalk durch Sumpfgasfermente (Kloakenschlamm diente zur Infektion der Gärlösung) in Wasserstoff und Kohlendioxyd gespalten wurde, welch letzteres an den Kalk gebunden blieb, so daß das entwickelte Gas fast reiner Wasserstoff war. Essigsaurer Kalk wurde unter den gleichen Bedingungen nicht zersetzt, dagegen fand Hoppe-Seyler, als er 10 g essigsaures Calcium mit 500 ccm Wasser und etwas Flußschlamm ansetzte, daß nach 2 Wochen eine Gärung begann, die eine Mischung von 1 Vol. CO_2 und 2 Vol. CH_4 lieferte nach der Gleichung:

$$(C_2H_3O_2)_2Ca + H_2O = CaCO_3 + CO_2 + 2CH_4.$$

Im Laufe von 13 Monaten wurde die Zersetzung vollständig. Hoppe-Seyler schließt, daß das im Darm von Menschen und Tieren auftretende Methan „nicht allein auf Spaltung von Cellulose zu beziehen sei, sondern auch auf die Methangärung der Essigsäure, die durch Fäulnisvorgänge aus anderen Körpern hervorgegangen ist".

---

[1]) Leo Popoff, Über die Sumpfgasgärung. Arch. f. d. ges. Physiol. **10**, 113 und speziell 142ff.

[2]) F. Hoppe-Seyler, Über die Prozesse der Gärungen usw. Arch. f. d. ges. Physiol. **12**, 1 speziell 12f., und Die Methangärung der Essigsäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**, 481, 1887.

Die vorstehenden Befunde lassen es zweifelhaft, ob unter den Bedingungen, wie sie im Pansen herrschen (hohe Temperatur, reichliche Mengen von Cellulose und anderen Kohlenhydraten), Fettsäuren angegriffen werden. Deshalb wurden die Versuche 22 und 23, Tabelle IX, ausgeführt. Der erstere zeigt, daß Acetat eine positive Wirkung hat. Es wurde erzeugt

in den ersten	4	Stunden	mit	Acetat:	7,20	ccm	CH_4,	64,51	ccm	CO_2
„ „	„	4	„	ohne	„	4,72	„	„	48,48	„	„
„ „ folgenden	4	Std.	mit		„	3,75	„	„	34,20	„	„
„ „	„	4	„	ohne	„	3,36	„	„	29,74	„	„

Die Steigerung durch das Acetat beträgt also

in den ersten	4	Stunden	für Methan	52,5 %	für	CO_2	33,1 %
„ „ folgenden	4	„	„	11,6 %	„	„	15,0 %.

Wenn, namentlich in den ersten Stunden, die CO_2-Entwicklung weniger gesteigert ist als die des CH_4, wird man daran zu denken haben, daß theoretisch die ganze aus Acetat gebildete Kohlensäure als $NaHCO_3$ gebunden bleiben sollte, wovon nur ein Teil allmählich durch die Dissoziation des Bicarbonats im Vakuum frei wird.

Die Bestimmung der am Schluß der Gärung an Alkali gebundenen Kohlensäure ergibt, daß von den 78,22 ccm CO_2, die ohne Acetat entwickelt wurden, 67,25 aus kohlensaurem Salz stammen, und von den 98,71 ccm CO_2, welche mit Acetat entwickelt wurden, 92,32 aus kohlensaurem Salz stammen. Man hätte ein anderes Verhalten erwarten sollen, wenn im letzteren Falle wirklich aus Acetat Carbonat gebildet würde. So müssen wir es also unentschieden lassen, ob wirklich ein wenig Essigsäure durch den Gärungsprozeß zerlegt wurde oder ob das Acetat nur anregend auf diesen Prozeß gewirkt hat, ohne selbst in denselben einbezogen zu werden; die letztere Annahme ist durch das Verhalten der Kohlensäure wahrscheinlich gemacht.

In Versuch 23 hat das zugesetzte Butyrat keineswegs fördernd auf die Gärung gewirkt. Im Gegenteil, es zeigt sich in den ersten 5 Stunden die Methanbildung von 5,48 auf 5,28 ccm die gesamte Kohlensäureausscheidung von 68,63 auf 58,95 ccm vermindert. Die Abscheidung von CO_2 aus Carbonaten läßt sich nicht recht vergleichen, weil sie für die unveränderte Pansenflüssigkeit nach 5 Gärungsstunden zu 52,70 ccm,

für die butyrathaltige nach 9 Stunden bei 38° C und 18 Stunden bei 21° C zu 58,93 ccm bestimmt wurde. In beiden Fällen überwiegt die aus dem Bicarbonat freigemachte CO_2 die eigentliche Gärungskohlensäure; ohne Zusatz um das 3,3 fache, mit Butyrat um das 2 fache.

Wenn wir hier eine Teilnahme von Buttersäure am Gärungsprozeß ausschließen können, so stimmt dieser Befund vollkommen mit den Erfahrungen von Hoppe-Seyler, der nach dieser Richtung einen scharfen Gegensatz zwischen Ameisensäure und Essigsäure einerseits und allen höheren Fettsäuren, von der Propionsäure ab, andererseits statuiert, und aus dem Verhältnis der Verbrennungswärme der Fettsäuren zu jener der Gärungsprodukte erklärt. Nur die Ameisensäure hat eine wesentlich höhere Verbrennungswärme als der daraus abgespaltene Wasserstoff, die der Essigsäure ist der des erzeugten Methans ungefähr gleich, und die höheren Fettsäuren haben eine niedrigere Verbrennungswärme als die zugehörigen Kohlenwasserstoffe. Die Gärungsorganismen haben also aus deren Abbau im Sinne der Spaltung in Kohlenwasserstoff und Kohlendioxyd keinen Energiegewinn. Wir dürfen aus diesen Versuchen schließen, daß die bei der Gärung gebildeten Fettsäuren unverkürzt dem Stoffwechsel des Tieres zugute kommen.

Neben den flüchtigen Fettsäuren kommt als Gärungsprodukt die Milchsäure in Betracht, von der wir wissen, daß sie bei einmägigen Tieren in der ersten Periode der Magenverdauung, ehe eine genügende Menge Salzsäure die Ingesta durchtränkt hat, aus Kohlenhydraten gebildet wird, und die sicher auch, wie später noch zu erörtern sein wird, im Pansen entsteht. Bekanntlich unterliegt die Milchsäure leicht weiteren Zersetzungen durch Mikroorganismen, wie sie auch für die höheren Tiere als Energiequelle eine Rolle spielt. (Vgl. die Ausführungen von Zuntz in Oppenheimers Handb. der Biochemie 4, 1, S. 832.) Im Pansen kann natürlich nur anoxybiotische Zersetzung der Milchsäure in Betracht kommen, z. B. die von Paschutin und Hoppe-Seyler genauer studierte Buttersäuregärung unter Abspaltung von Kohlendioxyd und Wasserstoff. Dabei hat, wenn keine Nebenreaktionen auftreten, die gebildete Buttersäure eine um 20,4% geringere Verbrennungswärme als die Milchsäure. Dieser Energieverlust

entspricht ziemlich genau der Verbrennungswärme des gebildeten Wasserstoffs, der natürlich der Ernährung des Tieres verloren geht. — Der einzige Versuch, den ich über die Beeinflussung der Darmgärung durch milchsauren Kalk angestellt habe (diese Zeitschr. 34, 227, Versuch 8 [2]) zeigt keine Veränderung der Gärung. — Wir dürfen also wohl allgemein annehmen, daß die Energieverluste, die die Nahrungsmittel bei der Pansengärung erleiden, nicht nennenswert durch sekundäre Angriffe der Mikroben auf die gebildeten Säuren modifiziert werden.

Bei Versuch 22 wurde noch eine für die Bewertung meiner Gärungsversuche wichtige Kontrolle durchgeführt. Die Gärung in der Blutgaspumpe ist in einem Punkte von der im Pansen verschieden. Durch die scharfe Auspumpung des Gärgemisches zu Beginn des Versuchs wird der im Pansen stets erhebliche Gehalt an physikalisch absorbierter Kohlensäure weggenommen und dadurch der Gehalt an H-Ionen stark herabgesetzt. Wir wissen aus vielen Erfahrungen, daß dies für den Ablauf enzymatischer Prozesse und noch mehr für die eigentlichen Lebensvorgänge aller Organismen nicht gleichgültig ist. — Es wurden zur Prüfung dieses Faktors gleichzeitig 400 ccm Pansenflüssigkeit in der gewohnten Weise in der Blutgaspumpe und 400 ccm in einem Kjeldahl-Kolben, der durch einen Schlauch mit dem Rezipienten einer anderen Pumpe verbunden wurde, der Gärung während 8 Stunden überlassen. Zu Beginn der Gärung wurde vor dem Erwärmen auf 38° C die Luft aus dem Kjeldahl-Kolben rasch ausgepumpt, dann die Kommunikation zwischen diesem und dem Vakuum abgesperrt. Während der Gärung wurde diese nur zeitweilig für einen Moment hergestellt, um der Bildung eines Überdrucks im Kolben vorzubeugen. Das Resultat war eine wesentliche Verstärkung der Gärung gegenüber dem Pumpenversuch: 18,03 ccm CH_4 gegen 8,08 und 117,73 ccm CO_2 gegen 78,22. Die Methanbildung ist in dem an Kohlensäure reicheren Gärgemisch um 123%, die CO_2 um 51% gesteigert.

Nur ein kleiner Teil der gesteigerten Gasentwicklung kann darauf beruhen, daß die Flüssigkeit zu Beginn des Gärungsversuchs nicht von Gasen befreit war. Wir schätzen diesen Fehler extrem groß, wenn wir annehmen, daß die Flüssigkeit bei Beginn des Gärungsversuchs dem Partialdruck entsprechend mit dem fraglichen Gase gesättigt war und

am Schluß dasselbe beim Auspumpen vollständig abgegeben habe. Nach dem von Winkler bestimmten Absorptionskoeffizienten enthalten 100 ccm Wasser bei 38° C mit reinem Methan gesättigt 2,45 ccm, also die 400 ccm Gärflüssigkeit 9,80 ccm Gas. Rechnen wir mit dem S. 2 gefundenen Methangehalt des Pansengases von 21,2% und einem Luftdruck (nach Abzug der Dampfspannung bei 38° C) von 710 mm, so konnte die Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs $\frac{9{,}8 \times 71 \times 21{,}2}{76 \times 100} = 1{,}94$ ccm Methan beherbergen. Sie hat aber faktisch viel weniger enthalten, weil sie bei den Manipulationen des Abgießens vom dickbreiigen Anteil und des Einfüllens in den Kolben zunächst ausgiebig mit der Luft in Berührung kam. Von den im Kjeldahl-Kolben mehr gefundenen 9,95 ccm Methan ist also der bei weitem größte Teil sicher durch verstärkte Gärung neu gebildet.

Bei der Kohlensäure fällt die in der Pumpe stetig fortschreitende Dissoziation der Bicarbonate im Kolben weg, darum ist die Steigerung der CO_2-Entwicklung nicht so groß wie die des Methans. Wenn unter diesen Umständen der am Schluß der Gärung gefundene Rest von an Alkali gebundener Kohlensäure nur unwesentlich (um 0,93 ccm) größer ist als bei der Gärung in der Pumpe, so beweist dies, daß auch die Bildung organischer Säuren in dem mit CO_2 gärenden Gasgemisch größer war als bei der von uns verwendeten Gärung im Vakuum.

IV. Folgerungen aus den mitgeteilten Versuchen.

Mit dem Versuch vom 8. VI. 1912 (Tabelle V) beginnt eine Reihe von Versuchen, deren Fortsetzung Tabelle VI und VII enthält, über die Prof. Zuntz bereits einiges in Landw. Vers.-Stat., Bd. 79/80, S. 786 bis 795 berichtet hat. Die genannten Tabellen enthalten das analytische Material, auf das sich jene Ausführungen stützen.

Um ein Zurechtfinden in dem großen Zahlenmaterial zu erleichtern, stelle ich in Tabelle X die auf 10 g gärende Substanz und 1 Stunde berechneten Zahlen der Gasentwicklung zusammen, aus denen die l. c. benutzten Mittelzahlen gewonnen wurden. Zur Mittelung wurde auch der Versuch (Tabelle V) vom 18. V. benutzt, da bei ihm fast dasselbe Futter wie in den übrigen Versuchen (nur 1 kg Schrot statt 1 kg Kartoffelstärke) verabreicht wurde.

Wir wollen in dieser Zusammenstellung die dünnflüssige Masse und den Brei gesondert behandeln.

Tabelle X.

Gase pro 10 g organ. Substanz und 1 Stunde.

Datum 1912	Flüssigkeit				Brei			
	CH_4	H_2	Kohlensäure aus vergorener Substanz	Kohlensäure aus Carbonaten	CH_4	H_2	Kohlensäure aus vergorener Substanz	Kohlensäure aus Carbonaten
18. V.	4,17	0,0	36,19	20,82	2,91	0,64	13,48	8,55
8. VI.	10,56	0,70	43,01	16,46	9,85	1,54	30,27	2,56
9.	2,19	0,0	22,74	20,80	2,42	0,29	15,15	6,14
25.	6,07	0,33	22,69	12,96	6,24	0,73	20,95	2,83
28.	6,48	0,0	42,28	6,17	1,45	0,29	11,30	1,52
19. VII.	11,24	0,0	44,46	30,96	3,45	0,48	20,81	1,41
20.	10,05	0,16	(45,55)	?	4,32	0,34	(17,86)	?
Mittel	7,25	0,17	36,70	18,03	4,31	0,62	18,55	3,84
Mittel ohne 20. VII.	6,79	0,17	35,23	18,03	4,30	0,66	18,66	3,84

Am 20. VII. konnte für die aus Carbonaten gebildete Kohlensäure keine Zahl eingesetzt werden, weil sowohl in der Flüssigkeit wie im Brei am Schluß der Gärung mehr CO_2 gefunden wurde als in der sofort auf CO_2 untersuchten Kontrollprobe. Die Ursache dieses paradoxen Befundes ist nicht aufgeklärt. Man wird, wie beim Versuch vom 10. XII. 1912 (ausschließliche Strohfütterung) an die Möglichkeit denken müssen, daß beim Sterilisieren der zur Ermittlung der Carbonatkohlensäure bestimmten Probe organische Säuren durch das Kochen der alkalischen Masse gebildet wurden. — Wegen dieses Bedenkens wurde in den späteren Versuchen die zur Ermittlung der gebundenen Kohlensäure bestimmte Probe nicht mehr gekocht, sondern schnell auf 0^0 abgekühlt und bis zur Versetzung mit Säure auf dieser Temperatur erhalten[1]). Da infolge der mißlungenen Bestimmung der aus Carbonaten stammenden CO_2 hier die als Gärungskohlensäure berechnete Zahl diese zusammen mit der Carbonat-CO_2 darstellt, schalten wir diesen Versuch für die weitere Betrachtung ganz aus.

[1]) Dieses Vorgehen erscheint unbedenklich, weil, wie aus vielen Angaben in den Tabellen ersichtlich ist, schon Abkühlen auf Zimmertemperatur die Gärung sehr stark herabsetzt, manchmal (vgl. Tabelle IX) geradezu aufhebt, so daß wir sicher annehmen können, daß nahe 0^0 C überhaupt keine Gärung mehr stattfindet.

Beim Überblick über die Zahlen fällt zunächst auf, daß der dünnflüssige Anteil in 4 von 7 Fällen gar keinen Wasserstoff liefert, im Durchschnitt aller Fälle kommt auf 1 Wasserstoff 43 Methan, was sehr gut mit dem Mittel der Respirationsversuche vom 14. und 24. VI. bei gleichem Futter harmoniert. Dort finden sich (l. c. S. 813) in 24 Stunden 285,2 l CH_4 und 7,93 l Wasserstoff, also auf 1 H = 36 CH_4. — Die Abhängigkeit der Wasserstoffgärung von geringfügigen Änderungen in der Zusammensetzung des Gärungsgemisches geht auch aus den dort angeführten Zahlen der Periode I (31. V. bis 8. VI.) hervor, in der Wasserstoff gänzlich fehlte. Zu dieser Periode gehören meine Versuche vom 8. und 9. VI., von denen der erste neben besonders intensiver Methanentwicklung reichlich Wasserstoff, der andere bei viel schwächerer Gärung gar keinen liefert.

Tabelle XI.

Abhängigkeit der Gärung vom Eiweißreichtum des Futters.

Datum	Stunden nach Fütterung	Im Futter Protein in % der organ. Substanz	Pro 10 g organ. Substanz und Stunde				
			CH_4	H_2	Kohlensäure aus vergorener Substanz	Kohlensäure aus Carbonaten	
			ccm	ccm	ccm	ccm	
Nach eiweißreicher Mahlzeit:							
8. VI.	3½	23,38	10,56	0,70	43,01	16,46	Fl.
8.	3½	23,38	9,35	1,54	30,27	2,56	Br.
28.	12	34,23	6,48	0	42,28	6,17	Fl.
28.	12	34,23	1,45	0,29	11,30	1,52	Br.
20. VII.	12	34,23	10,05	0,16	(45,55)	?	Fl.
20.	12	34,23	4,32	0,34	(17,86)	?	Br.
		Mittel	7,04	0,505	31,71	6,68	
Nach eiweißarmer Mahlzeit:							
9. VI.	12	8,48	2,19	0	22,74	20,80	Fl.
9.	12	8,48	2,42	0,29	15,15	6,14	Br.
25.	3	9,40	6,07	0,33	22,69	12,96	Fl.
25.	3	9,40	6,24	0,73	20,95	2,83	Br.
19. VII.	3½	11,40	11,24	0	44,46	30,96	Fl.
19.	3½	11,40	3,45	0,48	20,81	1,41	Br.
24.	5	11,40	7,20	0	—	—	Fl.
24.	5	11,40	3,24	0,31	—	—	Br.
		Mittel	5,25	0,27	24,47	12,52	

Wenn man die Zahlen der Kolumnen 2, 34 und 35 Tab. V ff. betrachtet, sieht man, daß der Eiweißgehalt des Futters sehr

ungleich auf die Tagesrationen verteilt ist; die Proben wurden bald nach einer sehr eiweißreichen, bald nach einer eiweißarmen Mahlzeit genommen; das hat einen sehr erheblichen Einfluß auf die Gärung, wie nebenstehende Zusammenstellung (Tab. XI) zeigt.

Aus vorstehenden Zahlen ergibt sich eine stärkere Entwicklung sowohl von brennbaren Gasen wie von eigentlicher Gärungskohlensäure in dem nach eiweißreicher Mahlzeit gewonnenen Panseninhalt; das ist um so bemerkenswerter, als hier das eigentlich gärende Material, die Kohlenhydrate, in geringerer Menge vorhanden sind; wollte man die Versuche statt auf 10 g organische Substanz auf 10 g N-freie Substanz berechnen, so würde das Resultat noch eklatanter.

Diese Resultate stehen in einem gewissen Widerspruch mit dem Befunde Kellners, daß Zugabe von Protein zum Futter die Ausscheidung brennbarer Gase nicht beeinflußt. Die Erklärung liegt wahrscheinlich darin, daß die Inhaltsmassen bei proteinreichem Futter kürzere Zeit im Pansen verweilen.

Für diese Annahme kann man den Umstand geltend machen, daß der Inhalt des Psalters, also das aus dem Pansen Entleerte, sich nach dem Schlachten doppelt so reich an Protein erwies als der Panseninhalt. In letzterem betrug das Protein 14,9 % der organischen Substanz, im Psalter 28,86 %.

Um das Verhältnis der gasförmigen Gärprodukte zueinander festzulegen, wollen wir zunächst die gesamte entwickelte CO_2 mit den brennbaren Gasen vergleichen, weil nur diese in allen Versuchen sichergestellt ist, auch im Versuch vom 24. VII., wo die Menge 55,62 ccm in der Flüssigkeit und 17,25 ccm im Brei beträgt. Diese Zahlen einbezogen, erhalten wir als Mittelwert der gesamten CO_2 nach eiweißreicher Mahlzeit 36,16 ccm CO_2, nach eiweißarmer 36,85 ccm CO_2.

Für die so wichtige Trennung der Kohlensäure in den durch eigentliche Gärung und den aus Carbonaten entwickeltem Anteil stehen uns nur 4 Zahlen nach eiweißreicher und 6 nach eiweißarmer Mahlzeit zur Verfügung. Wir wollen deshalb, um die bei der Gärung gebildeten Fettsäuremoleküle mit den

übrigen Gärprodukten vergleichen zu können, für diese vollständigen Versuche die Mittelwerte berechnen:

Eiweißreich:					Eiweißarm:				
	CH_4	H_2	Kohlensäure der Gärung	Kohlensäure aus Carbon.		CH_4	H_2	Kohlensäure der Gärung	Kohlensäure aus Carbon.
Sa (4)	27,84	2,52	126,86	26,71	Sa (6)	31,59	1,830	146,80	75,10
Mittel	6,96	0,63	31,72	6,68	Mittel	5,27	0,305	24,47	12,52

Auch hier ist die Gesamtmenge der entwickelten Kohlensäure nach eiweißreichem und eiweißarmem Futter nicht wesentlich verschieden: 38,40 ccm im ersten, 36,99 ccm im zweiten Falle, aber die Menge der aus Carbonaten entbundenen CO_2 ist im letzteren Falle fast doppelt so groß, die aus organischer Substanz abgespaltene um $^1/_4$ kleiner. Nun entspricht aber die Kohlensäure aus Carbonaten den für das Tier verwertbaren aus den Kohlenhydraten gebildeten organischen Säuren, und es erscheint deshalb die Gärung nach dem eiweißarmen Futter als die ökonomischere, vorausgesetzt, daß die Art der gebildeten Fettsäuren in beiden Fällen gleich war.

Die Bestimmung der aus Carbonaten abgespaltenen CO_2 ist aber nur in der Flüssigkeit wirklich zuverlässig, im Brei ist die absolute Menge vorhandenen Carbonats zu gering, wie man aus Kol. 32 und 33 der Tabellen V und VI erkennt. Wir wollen deshalb nun noch die aus der Flüssigkeit gewonnenen Zahlen für sich betrachten. Sie ergeben auf

18,03 ccm Carbonatkohlensäure 35,23 ccm aus Gärung = 1 : 1,9,

dagegen aus dem Brei auf

3,84 ccm Carbonatkohlensäure 18,66 ccm aus Gärung = 1 : 4,9.

Um die Bedeutung der Carbonatkohlensäure würdigen zu können, müssen wir noch die Natur der entstandenen Säuren, die das Alkalicarbonat zersetzen, kennen. Tappeiner hat bei seinen Cellulosegärungsversuchen festgestellt, daß flüchtige Fettsäuren entstehen. Ich habe bei dem Versuch vom 24. VII. (Tab. VI) sowohl in der Flüssigkeit wie im Brei die flüchtigen Fettsäuren nach Ansäuern durch Phosphorsäure mit Wasserdampf überdestilliert, sie im Destillat mit $^n/_5$-Kalilauge genau gegen Phenolphthalein neutralisiert und das Gewicht der Kalisalze nach dem Trocknen bestimmt. Dasselbe geschah mit zwei weiteren Portionen, nachdem sie $4^1/_2$ Stunden in der Pumpe ge-

goren hatten, wobei die Flüssigkeit etwas über dem Durchschnitt stehende Mengen von CH_4 und CO_2 lieferte, der Brei dagegen etwas unter dem Durchschnitt zurückblieb. Das Verhältnis von $CH_4 : CO_2$ war in der Flüssigkeit 1 : 7,7, im Brei 1 : 5,3; das entspricht fast genau dem Durchschnitt der Tab. X S. 33 zusamengestellten Versuche, wo das Verhältnis ist: in der Flüssigkeit 1 : 7,8, im Brei 1 : 5,2.

Wir haben es also in diesem Falle mit ganz typischer, besonders intensiver Pansengärung zu tun.

Aus dem Vergleich der verbrauchten Lauge mit dem Gewicht der Seifen ergab sich als Molekulargewicht der überdestillierten Fettsäuren

a) im dünnflüssigen Teil des Panseninhalts unmittelbar nach dem Aushebern 128,1, nach $4^1/_2$ Stunden Gärung 131,0;

b) im Brei unmittelbar nach dem Aushebern 126,8, nach $4^1/_2$ Stunden Gärung 129,1.

Dieser Versuch ist bereits l. c. S. 794 von Zuntz wie folgt besprochen worden:

„Da das Molekulargewicht des Kaliumbutyrats gleich 126,1, des Kaliumvalerianats gleich 140,1 ist, so ergibt sich, daß das Gemisch der flüchtigen Fettsäuren annähernd die Zusammensetzung der Buttersäure hatte.

Hieraus läßt sich nun der Energieverlust, den die Kohlenhydrate bei der Gärung im Pansen erleiden, mit einiger Sicherheit berechnen. Es kommt nämlich für diese Rechnung nicht darauf an, ob die gebildeten Fettsäuren von etwas über $126 - 38 = 88$ Molekulargewicht ein Gemisch verschiedener Säuren oder einheitlich Buttersäure sind. Nehmen wir z. B. den ziemlich extremen Fall, daß es sich um ein Gemisch von x Molekülen Essigsäure (Mol.-Gew. 60) und y Molekülen Valeriansäure (Mol.-Gew. 102) handle, die an Stelle von 100 Molekülen Buttersäure (Mol.-Gew. 88) in dem Gemisch der flüchtigen Fettsäuren vorhanden wären. Das Gewicht derselben müßte natürlich dem der äquivalenten Menge Buttersäure gleich sein, also:

$$1.\quad 102\,x + 60\,y = 8800$$
$$2.\quad x + y = 100.$$

Hieraus: $x = 66{,}67$ Mol. Valeriansäure,
$y = 33{,}33$ „ Essigsäure.

Nun beträgt die Verbrennungswärme von:

1 Mol Valeriansäure = 682,30 Cal, also $^2/_3$ Mol = 454,87 Cal.
2 „ Essigsäure = 209,60 „ „ $^1/_3$ „ = 69,87 „

1 Mol der Mischung = **524,74** Cal.
Die Verbrennungswärme von 1 Mol Buttersäure = **524,75** „

Wir können also unbedenklich die Wärmetönung bei der Gärung so berechnen, als ob nur Buttersäure gebildet wäre, statt eines beliebigen Gemisches niederer Fettsäuren vom mittleren Molekulargewicht der Buttersäure.

Wir legen der Rechnung das Mittel von 6 Versuchen zugrunde, in denen pro Stunde und 10 g organischer Substanz durch Gärung gebildet wurde: 6,79 ccm CH_4, 0,17 ccm H_2 und 35,23 ccm CO_2.

Durch die entstandene Säure wurden ausgetrieben 18,03 ccm CO_2. Rechnen wir die Säure als Buttersäure, so würde sie auf 1 Mol. aus Carbonat ausgetriebener CO_2 8 Atome C enthalten, also 8 Mol CO_2 bei ihrer Verbrennung liefern. So können wir die CO_2-Menge leicht berechnen, welche das vergorene Kohlenhydrat bei vollkommener Verbrennung geliefert hätte.

8 × 18,03 = 144,24 ccm CO_2 in der gebildeten Buttersäure,
6,79 „ „ in gebildetem Methan,
35,23 „ „ als Gärungs-CO_2.

Im ganzen 186,26 ccm CO_2 als Äquivalent des Kohlenstoffes im vergorenen Kohlenhydrat.

Rechnen wir dies als Polysaccharid, das pro Gramm 4185 Cal, also auf 162 g = 1 Mol = 678 Cal und 6 CO_2 = 134,3 l CO_2 liefert, so kämen bei vollständiger Verbrennung auf 1 l CO_2 = 5050, auf 186,26 ccm CO_2 = 940,6 cal.

1 Mol Buttersäure liefert 524,75 Cal und 89,51 l CO_2.

Es kommen also auf 144,24 ccm CO_2 aus Buttersäureverbrennung an Wärme 845,6 cal.

Bei der Umwandlung einer 186,26 ccm CO_2 entsprechenden Kohlenhydratmenge in Buttersäure gehen also

940,6 — 845,6 = 95,00 cal

verloren; hiervon beherbergen die

6,79 ccm CH_4 = 64,75 cal,
0,17 „ H_2 = 0,52 „ = 65,3 cal.

Es bleiben also als Gärungswärme 29,7 cal.

Bisher hat man bei Beurteilung der Gärverluste im Pansen nur die brennbaren Gase in Anschlag gebracht. Man sieht aus dieser Rechnung, daß noch etwa 45% ihres Brennwertes als Gärungswärme von dem Nutzwert der Kohlenhydrate abgezogen werden müßten."

Diese Schätzung der Gärungswärme zu 45% des Brennwertes der entwickelten Gase ist sehr viel niedriger, als ich sie bei den Verbrennungsversuchen in der calorimetrischen Bombe (S. 7) gefunden hatte; es wurde aber dort schon gesagt, daß diese Verbrennungsversuche sehr mangelhaft ausfielen. Auch der hier berechnete Wert von 45% des Brennwertes der Gase wird im folgenden noch eine erhebliche Korrektur erfahren.

V. Die Eigenschaften des Rinderspeichels und ihre Bedeutung für die Pansengärung.

Wir haben im vorigen Abschnitt gesehen, daß die Pansenflüssigkeit außerordentlich reich an gelösten Carbonaten ist. Die Quelle derselben kann nur der Speichel des Tieres sein, da die aufgenommenen Nahrungsmittel kaum nennenswerte Mengen kohlensaurer Salze enthalten.

Ich habe für die in den vorher besprochenen Versuchen benutzten Nahrungsmittel festgestellt, wieviel Kohlensäure aus ihnen durch Säure im Vakuum ausgetrieben wird. Ich fand:

auf 50 g Heu . . . . 18 mg CO_2 = 0,360 g pro kg
„ 50 „ Roggenschrot 7 „ „ = 0,140 „ „ „

Der Leinkuchen reagierte sauer, konnte also keine CO_2 enthalten, ebensowenig die Kartoffelstärke. Etwas erheblicher ist der Carbonatgehalt des hiesigen Leitungswassers mit 49,3 mg CO_2 in 400 ccm = 0,123 g pro kg.

Demnach würden mit Futter und Trinkwasser in den Pansen gelangen:

mit 5 kg Heu à 0,360 g	1,800 g CO_2
„ 2 „ Roggenschrot à 0,140 g	0,280 „ „
„ 20 „ Trinkwasser à 0,123 g	2,460 „ „
Im Tage	4,540 g CO_2

Ein solches Quantum ist im Durchschnitt der vorstehenden Bestimmungen (Tabellen V und VI) in 3 kg Pansenflüssigkeit vorhanden. Gegenüber der gewaltigen Inhaltsmasse des Pansens

(beim Schlachten unseres Versuchstieres über 66 kg) kommt das gar nicht in Betracht neben der großen Alkalimenge, die der Speichel zuführt.

Ich habe beim Sondieren des Rindes wiederholt größere Mengen des aus dem Maule fließenden Speichels aufgesammelt und untersucht. Die Ergebnisse waren folgende.

Tabelle XII.

Zusammensetzung von Ochsenspeichel.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nummer des Versuchs und Datum	Nummer der Analyse	Trocken-substanz %	Asche %	Organ. Sub-stanz %	Protein (N × 6,25) %	Alkalinität auf Soda berechnet[2]) %	CO_2-Menge in Carbonaten für 100 ccm Speichel g
17 20.VII. 12	1	1,167	0,831		0,088[1])		
	2	1,154	0,860		0,160		
	Mittel	1,160	0,845	0,320	0,163	0,609	0,4021[3])
18 24.VII. 12	1	1,125	0,843	0,282	0,223	0,636	—
	2	—	—	—	0,175	—	—
	Mittel	—	—	—	0,200	—	—
19 27. XI. 12	1	—	—	—	—	0,580	—
	2	—	—	—	—	0,593	—
20 10.XII. 12	1	—	—	—	—	0,644	—
	2	—	—	—	—	0,644	—
21 16.XII. 12	1	—	—	—	—	0,610	—
	2	—	—	—	—	0,610	—
22 28.XII. 12	1	—	—	—	—	0,648	—
23 30.XII. 12	1	—	—	—	—	0,656	—
	2	—	—	—	—	0,656	—

Verglichen mit dem Speichel anderer Tiere und des Menschen zeichnet sich der des Rindes durch seine außerordentlich hohe Alkalinität aus. Hierin ist offenbar eine Anpassung an die Pansengärung, bei der massenhaft Säuren gebildet werden, zu erblicken. Mit dem Kauen und Wiederkauen werden sehr große Mengen Speichel abgesondert, aber außerdem fließt, wie

[1]) N-Bestimmung im Speichel nach Sterilisation auf dem Wasserbad bis zum Kochen.

[2]) Titration $^n/_5$-H_2SO_4 gegen Lackmus bei Kochen.

[3]) CO_2-Bestimmung in Carbonaten von Ochsenspeichel mit derselben Methode wie im Pansenfiltrat ohne Gärung.

Ellenberger und seine Mitarbeiter gezeigt haben, ständig Speichel ab, wahrscheinlich reflektorisch reguliert durch das Bedürfnis der Neutralisation der sauren Gärungsprodukte. Nach den Angaben von Ellenberger dürfen wir vermuten, daß rund 50 l Speichel in 24 Stunden beim erwachsenen Rinde abgesondert werden, das würde ein Quantum von ca. 300 g Soda in die Vormägen fördern. Diese riesige Menge Soda reicht aber bei weitem nicht aus zur Neutralisation der großen Säuremengen, die nach den Berechnungen (S. 67) im Pansen gebildet werden. Dementsprechend fanden wir bei der Sektion des geschlachteten Tieres das aus den beiden ersten Mägen in den Labmagen wandernde Material nicht mehr alkalisch. Der Inhalt des Psalters reagierte vielmehr überall sauer, schwächer in der Pansen-, stärker in der Labmagengegend. Diese saure Reaktion war nicht durch Magensalzsäure bedingt, denn Kongopapier wurde nicht gebläut, sondern durch organische Säuren, also Gärungsprodukte, deren Menge beim Durchwandern des Psalters zunahm, derart, daß am Pansenende 100 ccm Inhalt 0,24 ccm $^n/_5$-Kalilauge brauchten, am Labmagenende dagegen 7,7 ccm (gegen Lackmus). — Wir müssen hieraus schließen, daß bis zum Eintritt der Massen in den Psalter mehr Säuren gebildet worden sind, als durch den Speichel neutralisiert werden konnten[1]). Trotz der sauren Reaktion dauert die Gärung im Psalter fort, allerdings in etwas modifizierter Form, denn sie liefert reichlich Wasserstoff. Etwa 1 Stunde nach dem Schlachten des Tieres begann der Gärungsversuch in der Blutgaspumpe. Auf 10 g organische Substanz und 1 Stunde berechnet lieferte der Psalterinhalt ca. 1,4 ccm CH_4, 0,7 ccm H_2 und 4,3 ccm CO_2. Die Intensität der Gärung ist also, bezogen auf die Einheit organischer Substanz, geringer, als man sie ge-

[1]) Es muß hier übrigens erwähnt werden, daß das Tier in den letzten Wochen vor dem Schlachten durch Milchsäurebeigabe stark saure getrocknete Rübenblätter neben Stroh erhalten hatte (4 kg Haferstroh, 1,5 kg Kleber, 3,5 kg Rohrzucker, 6 kg trockene Rübenblätter in 14 kg Wasser und 1000 g roher Milchsäure mit 400 g $C_3H_6O_3$ aufgeweicht. Die sauren Blätter waren zum letztenmal 14 Stunden vor dem Schlachten gegeben worden. 4 Stunden vor dem Tode hatte das Tier 4 kg Stroh und 1,5 kg Kleber erhalten. — Der ausgeheberte Panseninhalt war auch bei Verabreichung des sauren Futters stets stark alkalisch durch Speichel.

wöhnlich im dickbreiigen Teil des Panseninhalts findet. Daß aber auch in saurem Material noch eine erhebliche Entwicklung von Methan stattfinden kann, wenn auch meist mit reichlicherer Beimengung von Wasserstoff als bei alkalischer Reaktion, zeigen die später zu besprechenden Versuche mit Colon- und Caecuminhalt vom Schwein.

Bei der Abschätzung des Alkalibedarfs für die Pansengärung dürfen wir nicht die ganze vom Tier ausgeschiedene Methanmenge aus ihr ableiten. Ein Teil dieses Gases wird im Blind- und Dickdarm erzeugt. Zur Abschätzung beider Anteile dient der nach dem Schlachten des Tieres mit dem Inhalt des Caecum, Colon und Psalter gemachte Gärungsversuch. Ein weiteres überraschendes Ergebnis lieferte die Untersuchung des aus dem Maule bei Einführung der Schlundsonde oder auch nur des Maulgatters ausfließenden Speichels. Dieser Speichel entfaltete gar keine diastatische Wirkung. Selbst nach mehrstündiger Einwirkung desselben auf Stärkekleister bei Gegenwart von etwas Toluol zur Verhütung von Bakterienwirkung wurde Fehlingsche Lösung nicht reduziert; ebenso negativ fiel die Phenylhydrazinprobe aus; es konnten keine Phenyl-Maltosazon-Krystalle gewonnen werden, während solche in Versuchen mit menschlichem Speichel, der in viel kleineren Mengen und viel kürzere Zeit eingewirkt hatte, sehr reichlich auftraten. — Nur wenn der Speichel mit Säure nahezu neutralisiert war, konnten nach 24 stündiger Einwirkung großer Speichelmengen auf gekochte Stärke, nicht aber auf rohe, geringe Zuckermengen durch Reduktion Fehlingscher Lösung nachgewiesen werden. Bakterielle Spaltungen waren durch Toluolzusatz ausgeschlossen.

Es war zwar aus den Mitteilungen von Ellenberger und seinen Mitarbeitern bekannt, daß der Rinderspeichel zu den an Diastase armen, namentlich verglichen mit dem des Menschen und des Schweines, gehöre, aber das vollkommene Versagen der diastatischen Wirkung ist doch überraschend. Diese negative Eigenschaft des Rinderspeichels erscheint aber nach meinen Erfahrungen über die Gärungsvorgänge im Pansen ungemein zweckmäßig.

Angesichts der in allen Versuchen hervortretenden Tatsache, daß die eigentlichen Zucker sowohl der Hexosen- wie

der Pentosenreihe die Gärung mächtig steigern, während Stärke das nicht in merklichem Maße tut, ist es von großer Bedeutung, daß dem Speichel des Rindes Diastase fehlt. Dadurch wird der erhebliche Energieverlust, der bei der Gärung der Kohlenhydrate im Pansen stattfindet, für einen Teil der Stärke vermieden. Außerdem aber wird jene Benachteiligung der Verdauung der Rohfaser (Verdauungsdepression) vermieden, die dadurch zustande kommt, daß der Zucker als leichter zugängliche Nahrungsquelle die Bakterien von der Cellulose ablenkt.

Die vorher erwähnte Tatsache, daß die Alkalien des Speichels in dem durch den dritten zum Labmagen übertretenden Material durch einen Überschuß von Gärungssäuren neutralisiert sind, ist für die Eiweißverdauung im Labmagen wichtig. Gleich die ersten hier abgesonderten Salzsäuremengen können peptische Wirksamkeit entfalten, weil das Material schon sauer reagiert.

VI. Anteil der verschiedenen Abschnitte des Darmkanals an der Gärung beim Wiederkäuer.

Wenn wir die zur Neutralisation der sauren Gärungsprodukte im Pansen nötige Alkalimenge abschätzen und mit dem Alkaligehalt des Speichels vergleichen wollen, dürfen wir nicht die ganze vom Tier ausgeschiedene Methanmenge der Rechnung zugrunde legen, da ein Teil dieses Gases im Blind- und Dickdarm erzeugt wird. Zur ungefähren Bestimmung dieses Anteils dienten am 4. August 1913 nach dem Schlachten des Ochsen, der das Material zu allen vorstehenden Versuchen geliefert hatte, mit dem Inhalt der verschiedenen Darmabschnitte ausgeführte Gärungsversuche.

Der Inhalt der einzelnen Abschnitte des Verdauungskanals wurde sofort nach dem Schlachten gewogen und in großen verschlossenen Gefäßen per Autodroschke ins Laboratorium transportiert, wo die Blutgaspumpen zur Einleitung der Gärung bereit standen. Es wurden in den drei Pumpen je 400 g gemischter Inhalt des Caecum, des Colon und des Psalter der Gärung unterworfen. Die beiden ersten reagierten schwach alkalisch, der Psalterinhalt, wie schon erwähnt, schwach sauer. Das Gärungsgas hatte folgende Zusammensetzung:

Caecum:

	CO_2 %	CH_4 %	H %						
1. Std.	89,65	7,90	2,44	im	ganzen	105,6	ccm	Gas	(0^0 u. 760 mm)
2. „	87,78	8,79	3,42	„	„	63,4	„	„	„
3. „	82,45	12,84	4,70	„	„	45,4	„	„	„

Colon:

	CO_2 %	CH_4 %	H %						
1. Std.	87,88	7,20	4,92	im	ganzen	113,2	ccm	Gas	(0^0 u. 760 mm)
2. „	79,90	6,67	13,43	„	„	80,0	„	„	„
3. „	68,40	8,34	23,26	„	„	45,0	„	„	„

Psalter:

	CO_2 %	CH_4 %	H %						
1. Std.	67,78	21,44	10,77	im	ganzen	48,8	ccm	Gas	(0^0 u. 760 mm)
2. „	66,58	23,64	9,77	„	„	59,5	„	„	„
3. „	68,73	27,10	4,16	„	„	48,8	„	„	„

Der Abfall der Gasentwicklung von Stunde zu Stunde macht es wahrscheinlich, daß auch schon in der 1. Stunde die Gärung weniger intensiv als im lebenden Tier war. Dies gilt sicher für Caecum und Colon. Der relativ hohe Wasserstoffgehalt des Gärungsgases ist dagegen nicht nur auf postmortale Änderung des Charakters der Gärung zu beziehen, obwohl die starke Zunahme des Wasserstoffgehaltes im Coloninhalt, die schwächere in dem des Caecum eine solche Annahme nahelegt. Die kurz vor der Tötung des Tieres bei gleichem Futter ausgeführten Respirationsversuche ergaben nämlich eine ungewöhnlich hohe Wasserstoffausscheidung:

Am 22. Juli . . . . 263 l CH_4, 52 l H_2
„ 29. „ . . . . 450 l CH_4, 68 l H_2

Trotz der früher sowohl von Zuntz wie von mir gemachten Erfahrung, daß die Gärung des Materials aus dem Enddarm sich nach dem Tode infolge der zunehmenden Säuerung derart zu ändern pflegt, daß an Stelle von Methan mehr Wasserstoff entsteht, dürfen wir hier wohl annehmen, daß die Gärung in der 1. Stunde einigermaßen normale, wenn auch quantitativ zu niedrige Werte geliefert hat.

Unter dieser Annahme wollen wir den Anteil des Enddarms an der 24stündigen Methanbildung berechnen.

Das Caecum hatte 5,35 kg Inhalt mit 13,4 % lufttrockene Substanz = 735 g im ganzen, wovon 447,7 g Organisches, 78,7 g Protein.

400 g dieses Materials lieferten in der 1. Stunde:

8,34 ccm CH_4, 2,58 ccm H_2, 94,66 ccm CO_2 (0° und 760 mm), also 100 g in 24 Stunden:

50,04 ccm CH_4 und 15,48 ccm H_2,

die 5,35 kg in 24 Stunden:

2,68 l CH_4 und 0,83 l H_2.

Das Colon hatte 3215 g Inhalt mit 12,31 %, also im ganzen 396 g lufttrockene Substanz, wovon 259,4 g Organisches, 40,0 g Protein.

Die Gärung lieferte in der 1. Stunde aus 400 g:

8,15 ccm CH_4, 5,58 ccm H_2 und 99,50 ccm CO_2 (0° und 760 mm), also 100 g in 24 Stunden:

48,90 ccm CH_4 und 33,48 ccm H_2,

die 3215 g in 24 Stunden:

1,57 l CH_4 und 1,08 l H_2.

Hiernach würde der Enddarm in 24 Stunden nur etwas über 4 l Methan liefern; selbst wenn wir annehmen, daß die vorangegangene Abkühlung und die Störung durch die Anhäufung der Gärungsprodukte, die ja während des Lebens im Enddarm rasch resorbiert werden, die Intensität der Gärung auf die Hälfte reduziert hätte, würden dem Enddarm nur etwa 2 % des ganzen gebildeten Methans entstammen.

Auch der Anteil des Psalters am Gesamtergebnis der Gärungen ist relativ gering. Im Mittel der 3 Gärungsstunden, die ja hier ziemlich gleichmäßige Gasmengen lieferten, haben wir: aus 400 g in 3 Std. 37,84 ccm CH_4, 12,89 ccm H_2, 106,4 ccm CO_2, also aus

100 g „ 24 „ 75,50 „ CH_4, 26,20 „ H_2,
11150 g „ 24 „ 8,42 l CH_4, 2,92 l H_2.

Die Inhaltsmasse des Pansens wog	66,30 kg,
die der Haube	1,76 „
zusammen	68,06 kg,

mit 18,27 %, also im ganzen 12,43 kg lufttrockene Substanz, worin 9,27 kg organische Substanz und 1381 g Protein, entsprechend etwa dem Rauhfutter von $1^1/_2$ Tagen. Rechnen wir

Tabelle

Gärungsversuche mit Pansen-, Labmagen-

1	2	3	4	5	6	7	8
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres	Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organ. Substanz	Nummer der Gasprobe
12 1912 17. VI.	0,75 kg Heu, 200 g Schrot und Hafer	25 g Dünndarminhalt	2,300	—	—	—	1
		115 g Labmageninhalt nach Neutralisation mit Sodalösung	9,760	—	—	—	1
		50 g Panseninhalt	1,800	0,548	1,252	30,44	1
13 19. VI.	1,5 kg Heu, 200 g Schrot und Hafer	200 g Dünndarminhalt	17,646	3,965	13,681	22,47	1 2
		200 g Labmageninhalt nach Neutralisation mit Sodalösung	16,150	—	—	—	1
		200 g Panseninhalt	27,355	5,663	21,692	20,70	1 2

hierzu den Inhalt des Psalters und des Enddarms, so finden wir eine befriedigende Übereinstimmung mit der Berechnung der im Darmkanal gärenden Futtermassen, die Zuntz[1]) auf Grund meiner Gärungsversuche angestellt hat. Er kam zu dem Resultat, daß die gärenden Massen etwa der Futteraufnahme von 2 Tagen entsprächen.

Weitere Anhaltspunkte über die Verteilung der Gärung auf die einzelnen Abschnitte des Verdauungskanals lieferten Versuche an zwei Ziegen.

Das erste der beiden Tiere hatte längere Zeit gekränkelt, wenig gefressen und war sehr elend, als es getötet wurde, das andere war in normalem Zustande. Die Versuche liefern insofern eine Ergänzung zu den Schlachtergebnissen am Ochsen, als sie zeigen, daß auch im unteren Teile des sehr langen Dünndarmes vom Wiederkäuer recht lebhafte Gärungen ablaufen können. Das ist um so bemerkenswerter, als beide

[1]) Landw. Versuchsstationen 79/80, 791.

XIII.

und Dünndarminhalt von Ziegen.

9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dauer der Gärung bei 38°	Angewandte Gasmenge	Zusammensetzung der Gase			Eingedrungene Luft	Gesamtmenge des entw. Gases	Gesamtmenge in der Gärprobe			Relation	
	ccm	CO_2 %	CH_4 %	H %	%	ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CH_4 : CO_2$ ($CH_4 = 1$ gesetzt)	$H : CO_2$ ($H = 1$ gesetzt)
8h	19,380	100,00	—	—	—	2,79	2,79	—	—	—	—
7h 15′	18,290	100,00	—	—	—	0,98	0,98	—	—	—	—
7h 40′	10,800	63,57	10,50	25,92	—	20,28	12,88	2,14	5,26	1:6,02	1:2,45
3h	19,780	87,68	6,10	6,22	0,40	127,30	111,62	7,77	7,91	1:14,37	1:14,10
24h bei 20°	19,660	60,45	0,72	38,83	0,96	207,76	125,60	1,49	80,67	1:84,00	1:1,56
3h	19,825	100,00	—	—	—	1,75	1,75	—	—	—	—
3h	19,215	67,33	18,80	13,84	0,14	107,60	72,45	20,23	14,94	1:3,58	1:4,86
24h bei 20°	19,630	74,76	24,49	0,76	—	220,63	164,93	54,02	1,68	1:3,05	1:98,37

Versuche übereinstimmend zeigen, daß die Schädigung der Mikroben durch die Salzsäure im Labmagen eine so hochgradige ist, daß auch nach Neutralisation mit Sodalösung innerhalb $7^1/_4$ Stunden im einen, innerhalb 3 Stunden im anderen Falle keine Gärung auftritt. Die Spuren entwickelter Kohlensäure entstammen wahrscheinlich dem bei der Neutralisation gebildeten Bicarbonat. In der Probe vom 17. VI., wo ja auch die Pansengärung sehr schwach und durch Überwiegen von Wasserstoff über Methan abnorm war, entwickelt der Dünndarminhalt nur ein wenig Kohlensäure; bei der minimalen Nahrungsaufnahme der letzten Tage enthält offenbar der Verdauungskanal kaum noch gärungsfähige Substanzen. Ganz anders im Versuch vom 19. VI. an einer normal genährten Ziege. Wenn wir hier die Gärprodukte auf 10 g organische Substanz und 1 Stunde berechnen, so ergibt sich:

für Panseninhalt: 8,828 ccm CO_2, 2,465 ccm CH_4, 1,821 ccm H,
„ Dünndarminhalt: 21,085 ccm CO_2, 1,468 ccm CH_4, 1,495 ccm H.

Verglichen mit den in Tab. X und XI zusammengestellten Zahlen für die Gasmengen, die Panseninhalt vom Rinde in 1 Stunde aus 10 g organischer Substanz liefert, erscheint die Pansengärung bei der Ziege schwach. Dies erklärt sich aber im wesentlichen aus der grobstengligen Beschaffenheit des zur Gärung benutzten Materials, wodurch die dem Angriff der Mikroben gebotene Oberfläche im Verhältnis zur Masse des gärenden Materials gering war. Als einigermaßen abnorm dokumentiert sich aber die Gärung des Panseninhalts durch den hohen Gehalt an Wasserstoff.

In den zahlreichen von mir untersuchten Proben des Pansengases von der Ziege[1]) war die Methanmenge im Durchschnitt 20 bis 50 mal größer als die des Wasserstoffs; nur in einem Falle bei Rübenfütterung stieg das Verhältnis auf 1:9,84, während es im vorliegenden Gärungsversuch 1:1,35 beträgt.

Daß übrigens die reichliche Bildung von Wasserstoff neben Methan bei Ziegen häufig vorkommt, zeigen die Untersuchungen von Boycott und Damant[2]) über die von Ziegen ausgeschiedenen brennbaren Gase. Sie fanden im Mittel 2 Vol. CH_4 auf 1 Vol. H_2.[3])

Auch im Dünndarminhalt ist die Wasserstoffbildung sehr

---

[1]) Diese Zeitschr. **34**, 220.

[2]) Boycott und Damant, On the quantities of marsh gas, Hydrogen and Carbon dioxide produced in the alimentary canal of goats. Journ. of Physiol. **36**, 283, 1907.

[3]) Ich möchte diese Gelegenheit benutzen, einen Irrtum der Autoren richtigzustellen. Sie zitieren einen Vortrag von mir über Haut- und Darmatmung (Arch. f. [Anat. u.] Physiol. 1894, 354), um meiner dort geäußerten Ansicht, daß der größere Teil der im Darm gebildeten Gärungsgase resorbiert und durch die Lungen ausgeschieden werde, entgegenzutreten. Ich sage aber an der genannten Stelle ausdrücklich, daß um so weniger Gase resorbiert werden, je größer das Tier ist und je kleiner mit wachsendem Tiergewicht die Darmoberfläche im Verhältnis zur Inhaltsmasse wird. Ausgehend von der Tatsache, daß beim Kaninchen $^3/_4$ des Methans durch die Lungen ausgeschieden wird, berechne ich dort aus der Relation zwischen Masse und Oberfläche, daß beim Menschen $^1/_2$, beim Pferd nur $^1/_8$ des Methans diesen Weg geht. Beim Wiederkäuer ist diese Menge noch viel geringer, weil die relativ kleine und dazu stark verhornte Oberfläche der Vormägen die Resorption beschränkt. (Vgl. meine Darlegungen in Landw. Versuchsstationen 79/80, 785.)
Zuntz.

reichlich. Wenn wir die hier gefundene Intensität der Gärung auch für das Rind annehmen, würden auf die 282 g organische Substanz in den 5,16 kg Dünndarminhalt bei unserem Ochsen in 24 Stunden gebildet werden:

$$14{,}27\ l\ CO_2, \qquad 0{,}994\ l\ CH_4, \qquad 1{,}012\ l\ H,$$

das sind fast ebensoviel brennbare Gase wie im Coloninhalt.

Wenn wir die Gärung im Dünndarm zu der im Enddarm zurechnen, bleibt immer noch das enorme Übergewicht der Gärung in den Vormägen, die wenigstens 95% der ganzen Gärungsgase liefert.

VII. Die Gärungen im Enddarm des Schweines.

Im Anschluß an die Stoffwechselversuche an 3 Schweinen, welche die Herren v. d. Heide und Klein in dieser Zeitschrift **55**, 195 kurz beschrieben haben, konnte ich nach dem Schlachten der Tiere die Gärung der Inhaltmassen des Blinddarms und Dickdarms studieren. Die Tiere erhielten die letzten Tage vor dem Schlachten genau dasselbe kohlenhydratreiche Mastfutter, das sie in der 3. Versuchsperiode erhalten hatten, so daß anzunehmen ist, daß auch dieselbe Menge brennbarer Gase gebildet wurde: im Mittel von 3 Respirationsversuchen für die 3 Schweine zusammen in 24 Stunden 48,2 l Methan und 22,0 l Wasserstoff. Um die auf jedes der 3 Tiere entfallende Gasmenge abzuschätzen, dürfen wir dieselbe wohl proportional der Nahrungsaufnahme setzen. Die dem Gewicht proportional abgestufte Aufnahme von Gerstenschrot, Trockenhefe und Trockenkartoffeln

war bei der	großen Sau . .	= 2510 g
„ „ „	mittleren Sau . .	= 2243 g
„ „ „	kleinen Sau . .	= 2020 g
	im ganzen	= 6773 g

Diesen Gewichten proportional verteilen sich die brennbaren Gase auf die 3 Tiere wie folgt:

große Sau . .	17,86 l CH_4	8,15 l H_2
mittlere Sau .	15,96 l „	7,29 l „
kleine Sau . .	14,38 l „	6,56 l „
Sa.	48,20 l CH_4	22,00 l H_2

Tabelle

Gärungsversuche mit Darminhalt von Schweinen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres	Nr. d. Gärprobe	Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organischen Substanz	Dauer der Gärung	Nr. d. Gasprobe	Angewandte Gasmenge ccm
27	Große Sau[1]).	1	300 g Coecuminhalt ohne Zusatz	20,907	4,495	16,412	21,50	4h	1	19,390
	Schrot 300 g,							4h	2	19,250
1913	Trockenkartoffeln 2050 g,							15h b. 16°	3	
16. V.	Hefe 160 g.							2h 15′	4	
	Letzte Fütterung vor 3 Stunden.		Nach Zusatz von 0,400 g Soda mit 75 ccm Aq. dest. und CO_2-Entfernung					3h 15′	5	
		2	300 g Coloninhalt ohne Zusatz	24,014	6,513	17,501	27,12	4h	1	19,750
								4h	2	19,880
								15h b. 16°	3	
								2h 15′	4	
			Nach Zusatz von 0,400 g Soda mit 75 ccm Aq. dest. und CO_2-Entfernung					3h 15′	5	
		3	300 g Coloninhalt mit 3 g Rohrzucker und					4 { 2h	1	19,560
								{ 2h	2	19,550
			25 ccm Aq. dest.	35,46	10,65	24,81	29,35	4h	3	19,750
								15h b. 15°	4	
								2h 15′	5	
			Nach Zusatz von 0,65 g Soda mit 75 ccm Aq. dest. und CO_2-Entfernung					3h 15′	6	
29	Mittlere Sau[2]).	1	250 g Coecuminhalt ohne Zusatz	21,374	4,453	16,921	20,84	3h 20′	1	19,730
	Schrot 268 g,									
27. V.	Trockenkartoffeln 1832 g,		Nach Zusatz von 0,400 g Soda mit 75 ccm Aq. dest. und CO_2-Entfernung					4h	2	
	Hefe 143 g.							15h b. 17°	3	19,880
	Ca. 12 Stunden vor dem Schlachten gefüttert.							3h	4	

[1]) Rohinhalt: Magen = 2,140 g, Coecum = 750 g, Colon + mit einem Stück Mastdarm = 2,170 g. Reaktion am Anfang der Gärung überall sauer.

XIV.

(Gasvolumen reduziert auf 0° und 760 mm.)

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Zusammensetzung der entwickelten Gase			Eingedrungene Luft	Gesamtmenge der entwickelten Gase	Gesamtmenge der entwickelten			Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std. gebildeten			Relation		
CO_2 %	CH_4 %	H %	%	ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CH_4 : CO_2$ $CH_4 = 1$	$H : CO_2$ $H = 1$	$CH_4 : H$ $H = 1$
82,10	1,91	15,98	—	284,38	233,50	5,42	45,46	27,92	0,65	5,436	1 : 43,02	1:5,13	1 : 0,12
91,68	1,32	7,00	0,18	66,76	61,21	0,88	4,67	7,32	0,106	0,559	1 : 69,1	1:13,1	1 : 0,18
				ca. 4—5									
				„ 1—2									
				„ 1—2									
85,02	3,96	11,02	0,30	426,14	362,30	16,88	46,96	37,72	1,757	4,890	1 : 21,46	1:7,71	1 : 0,36
93,81	2,70	3,49	0,81	58,98	55,33	1,59	2,06	5,76	0,166	0,214	1 : 34,67	1:26,83	1 : 0,77
			Σ	*485,12*	*417,63*	*18,47*	*49,02*						
				ca. 10									
				„ 5									
				„ 5									
82,26	11,66	6,08	—	302,05	248,40	35,28	18,37	34,60	4,797	1,887	1 : 7,04	1:13,52	1 : 1,9
85,47	11,56	2,96	—	283,40	242,24	32,76	8,40				1 : 7,39	1:28,80	1 : 3,9
				585,45	*490,64*	*68,04*	*26,77*						
92,20	5,10	2,70	0,21	83,43	76,93	4,25	2,25	5,42	0,300	0,158	1 : 18,05	1:34,15	1 : 1,9
			Σ	*668,88*	*567,57*	*72,29*	*29,02*						
				ca. 30									
				„ 8									
				„ 10									
82,58	4,87	12,55	0,25	114,00	94,13	5,56	14,30	13,21	0,780	2,008	1 : 16,92	1:6,57	1 : 0,38
93,57	1,06	5,37	0,90	18,40	17,23	0,19	0,98	0,366	0,004	0,021	1 : 87,54	1:17,42	1 : 0,19

*) Rohinhalt: Magen = 1860 g, Coecum = 590 g, Colon + Rectum = 2,300 g. Reaktion überall sauer.

Tabelle XIV

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Versuchs-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres	Nr. d. Gärprobe	Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organischen Substanz	Dauer der Gärung	Nr. d. Gasprobe	Angewandte Gasmenge ccm
29 1913 27. V.	Mittlere Sau[1]). Schrot 268 g, Trockenkartoffeln 1832 g, Hefe 143 g. Ca. 12 Stunden vor dem Schlachten gefüttert.	2	250 g Coecuminhalt mit 3 g Stärke u. 70 ccm gekochtem Wasser	24,67	4,58	20,09	18,58	3h 20′	1	19,850
			Nach Zusatz von 0,400 g Soda in Lösung und CO_2-Entfernung					4h 15h b. 17° 3h	2 3 4	
		3	300 g Coloninhalt ohne Zusatz	31,36	9,78	21,58	31,20	3h 35′	1	19,770
			Nach Zusatz von 0,400 g Soda in Lösung und CO_2-Entfernung					4h 15h b. 17° 3h 15′	2 3 4	19,950 19,630 19,970

Der zu untersuchende Darminhalt wurde unmittelbar nach dem Schlachten entnommen und befand sich kaum 1 Stunde nach dem Tode der Tiere ausgepumpt im Gärkolben. Trotzdem waren wohl die beobachteten Gärungen von den im lebenden Körper ablaufenden abweichender, als dies bei den Versuchen mit Panseninhalt der Fall war. Die zunehmende Säuerung wird intra vitam durch die lebhafte Resorption in diesen Darmabschnitten einerseits, durch die Sekretion stark alkalischen Darmsaftes andererseits in Schranken gehalten. Wir wissen aber aus den Versuchen mit Panseninhalt, daß bei eintretender Säuerung der Charakter der Gärung sich häufig ändert, namentlich Wasserstoff an Stelle von Methan gebildet wird, und daß bei einem gewissen Säuerungsgrad die Gärung überhaupt gehemmt wird. Die Abnahme der Intensität der Gärung in den späteren Stunden zeigt sich ausnahmslos bei allen hier vorliegenden Versuchen, und es ist auch nicht gelungen, die Gärung durch Zusatz einer die Masse annähernd

[1]) Rohinhalt: Magen = 1860 g, Coecum = 590 g, Colon + Rectum = 2,300. Reaktion überall sauer.

Fortsetzung).

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Zusammensetzung der entwickelten Gase			Eingedrungene Luft	Gesamtmenge der entwickelten Gase	Gesamtmenge der entwickelten			Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std. gebildeten			Relation		
CO_2 %	CH_4 %	H %	%	ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CH_4 : CO_2$ $CH_4 = 1$	$H : CO_2$ $H = 1$	$CH_4 : H$ $H = 1$
83,54	5,32	11,14	0,55	152,47	127,36	8,11	17,00	15,49	0,986	2,066	1 : 15,70	1:7,49	1 : 0,48
				ca. 20									
79,66	18,64	1,69	—	473,87	337,51	88,33	8,03	33,62	7,866	0,715	1 : 4,27	1:47,0	1 : 11,0
80,50	16,97	2,53	—	364,58	293,50	61,86	9,22	23,40	4,932	0,735	1 : 4,74	1:3,18	1 : 6,7
84,36	15,15	0,49	8,15	301,10	254,00	45,60	1,50	5,40	0,970	0,032	1 : 5,57	1:169	1 : 3,0
84,10	12,57	3,33	—	203,80	171,40	25,62	6,78	16,81	2,513	0,666	1 : 6,69	1:25,25	1 : 3,8

neutralisierenden Sodamenge wieder auf die anfängliche Höhe zu bringen, wenn auch in einigen Fällen die Kurve des Abfalls danach eine weniger steile wurde. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß auch die in den ersten Stunden beobachtete Größe der Gärung schon hinter der vitalen zurückstand. Das Verhältnis zwischen den beiden brennbaren Gasen ändert sich aber keineswegs regelmäßig im Sinne eines Überwiegens des Wasserstoffs in den späteren Stunden (vgl. Stab 25 der Tabellen), so daß man wohl annehmen kann, daß die beobachtete Art der Gärung den vitalen Verhältnissen entspricht. Um diese Annahme zu prüfen, wollen wir aus den 6 Gärungsversuchen, in denen kein Zusatz zum Darminhalt erfolgte, die in der ersten Versuchszeit entwickelten Gärungsgase in Tab. XVI S. 56 auf den ganzen Inhalt des betreffenden Darmabschnitts und auf 24 Stunden berechnen. Diese Rechnung erscheint berechtigt, weil bei dem starken Mastfutter die Füllung des Enddarms während des ganzen Tages eine ziemlich gleichmäßige war, wie denn auch bei der kleinen Sau 12 Stunden nach dem Fressen noch 1,39 kg Inhalt im Magen gefunden wurde.

Tabelle

Gärungsversuche mit Darminhalt von Schweinen

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Versuch-Nr. und Datum	Fütterung des Tieres	Nr. d. Gärprobe	Gärungssubstanz	Organische Substanz g	Protein (N × 6,25) g	N-freier Rest g	Protein in % zur organischen Substanz	Dauer der Gärung	Nr. d. Gasprobe	Angewandte Gasmenge ccm
28 1913 20. V.	Kleine Sau[1]). Schrot 238 g, Trockenkartoffeln 1653 g, Hefe 129 g. Vor 12 Stunden gefüttert.	1	300 g Coecuminhalt ohne Zusatz	24,554	7,018	17,536	28,58	2^h 7′	1	19,750
								3^h 40′	2	19,310
			Nach Zusatz von 400 g Soda in Lösung und CO_2-Entfernung					3^h	3	17,890
								15^h b. 16°	4	—
								4^h	5	—
		2	300 g Coloninhalt ohne Zusatz	38,00	12,27	25,73	32,31	2^h 12′	1	19,480
									2	19,180
								3^h 45′	3	19,410
									4	19,760
			Nach Zusatz von 0,400 g Soda in Lösung und CO_2-Entfernung					3^h	5	19,640
								15^h b. 16°	6	—
		3	300 g Coloninhalt mit 3 g Rohrzuck. u. 100 ccm Wasser	37,84	11,72	26,12	30,96		1	19,570
								2^h 8′	2	19,760
									3	19,290
								3^h 35′	4	19,610
									5	19,370
			Nach Zusatz von 0,400 g Soda in Lösung und CO_2-Entfernung					3^h	6	19,210
								15^h b. 16°	7	19,620
								2^h	8	19,420
								1^h 30′	9	19,550

Tabelle XVI läßt zunächst keinen Zweifel, daß die im Enddarminhalt beobachtete postmortale Gärung hinter der vitalen sehr zurücksteht. Im Mittel der 3 Respirationsversuche hatten die 3 Tiere zusammen

[1]) Rohinhalt: Magen = 1,390 g, Coecum = 400 g, Colon + Rectum = 1,730 g. Reaktion überall sauer.

XV.

(Gasvolumen reduziert auf 0° und 760 mm).

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Zusammensetzung der entwickelten Gase			Eingedrungene Luft	Gesamtmenge der entwickelten Gase	Gesamtmenge der entwickelten			Auf 10 g organ. Substanz pro 1 Std. gebildeten			Relation		
CO_2 %	CH_4 %	H %	%	ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H ccm	$CH_4 : CO_2$ $CH_4 = 1$	$H : CO_2$ $H = 1$	$CH_4 : H$ $H = 1$
82,02	9,25	8,73	0,14	303,46	248,90	28,07	26,49	47,87	5,400	5,096	1 : 8,86	1:9,39	1 : 1,06
92,47	7,21	0,32	3,46	63,71	58,92	4,59	0,20	6,54	0,510	0,022	1 : 12,81	1:287	1 : 22,4
98,05	0,76	1,19	1,00	16,80	16,47	0,12	0,21	2,236	0,017	0,027	1 : 128,6	1:81,91	1 : 0,63
				383,97	**323,29**	**32,78**	**26,90**						
				ca. 3—5									
				ca. 5—8									
75,94	23,03	1,02	0,15	282,46	214,50	65,06	2,90				1 : 3,29	1:73,85	1 : 22,4
				441,54	**341,16**	**96,22**	**4,16**	40,82	11,51	0,497			
79,62	19,59	0,79	0,17	159,08	126,66	31,16	1,26				1 : 4,06	1:100,3	1 : 24,7
78,80	20,28	0,92	0,54	295,42	232,76	59,91	2,75				1 : 3,88	1:84,50	1 : 21,7
				449,88	**362,76**	**82,85**	**4,27**	25,46	5,816	0,300			
84,15	14,85	0,98	0,77	154,46	130,00	22,94	1,52				1 : 5,66	1:85,05	1 : 15,0
79,00	19,80	1,19	1,28	297,86	235,30	59,00	3,56	20,65	5,177	0,312	1 : 3,98	1:66,0	1 : 16,5
			Σ	**1189,28**	**939,22**	**238,07**	**11,99**						
77,94	20,45	1,61	2,17	276,75	215,67	56,60	4,48				1 : 3,81	1:48,13	1 : 12,6
80,01	19,13	0,86	0,25	181,53	145,25	34,72	1,56	66,50	15,32	1,00	1 : 4,18	1:92,76	1 : 22,2
				668,48	**536,72**	**123,69**	**8,06**						
83,61	15,42	0,96	0,15	210,20	175,80	32,37	2,02				1 : 5,43	1:86,7	1 : 15,9
83,01	15,95	1,04	0,57	288,76	239,70	46,06	3,00				1 : 5,20	1:79,7	1 : 15,3
				391,72	**328,27**	**59,69**	**3,76**	24,21	4,402	0,277			
86,03	13,23	0,74	0,73	102,96	88,57	13,63	0,76				1 : 6,50	1:115,6	1 : 17,8
84,12	13,64	2,24	—	257,44	216,55	35,11	5,78	19,07	3,093	0,510	1 : 6,16	1:37,4	1 : 6,0
			Σ	**1317,64**	**1081,54**	**218,49**	**17,60**						
87,07	12,66	0,26	0,16	187,03	162,86	23,68	0,49	2,87	0,417	0,008	1 : 6,87	1:328	1 : 47,7
84,79	12,09	3,12	0,12	117,73	99,81	14,23	3,69	13,19	1,880	0,488	1 : 7,01	1:27,0	1 : 3,8
85,24	12,10	2,66	—	58,45	49,83	7,07	1,55	8,780	1,246	0,274	1 : 7,04	1:32,8	1 : 4,5

in 24 Stunden 48 l Methan und 22 l Wasserstoff geliefert. Nach dem Tode lieferte der Darminhalt

rund 10 l Methan und 4 l Wasserstoff,

d. h. vom ersteren Gas etwas mehr als $^1/_5$, vom letzteren etwas weniger als $^1/_5$. — Die Relation der beiden Gase zueinander ist also in den Gärungsversuchen fast dieselbe, wie sie das

lebende Tier liefert; wir können deshalb annehmen, daß die Art der Gärung sich nicht wesentlich geändert hat, daß sie aber nach dem Tode sehr rasch an Intensität abnimmt, wofür die Gründe schon S. 52 besprochen wurden (vgl. übrigens S. 66).

Tabelle XVI.

Darmgärungen auf den ganzen Inhalt und 24 Stunden berechnet.

Gärungssubstanz	CO_2 ccm	CH_4 ccm	H_2 ccm	Summe der brennbaren Gase
Große Sau:				
Coecum	3502	81	682	763
Colon	15724	733	2038	2771
ganzer Enddarm . .	19226	814	2720	3534
Mittlere Sau:				
Coecum	1640	97	249	346
Colon	17331	4536	412	4948
ganzer Enddarm . .	18971	4633	661	5294
Kleine Sau:				
Coecum	3763	424	401	825
Colon	13494	4093	182	4275
ganzer Enddarm . .	17257	4517	583	5100
alle drei Tiere	**55454**	**9964**	**3964**	**13928**

Ein recht erheblicher Teil der vom lebenden Schwein ausgeschiedenen brennbaren Gase stammt aber auch aus dem von mir nicht untersuchten Dünndarminhalt. Wie lebhaft hier die Gärungen sein können, zeigt der Versuch an der Ziege Tab. XIII.

Bemerkenswert ist das sehr wechselnde Verhältnis der beiden brennbaren Gase zueinander; während bei der großen Sau der Wasserstoff stark das Methan überwiegt, ist bei den beiden anderen Tieren das Umgekehrte der Fall. Die hierin sich ausprägende große Labilität der Gärung bei unverändertem Futter war auch schon bei den Respirationsversuchen aufgefallen, trotzdem hier immer nur das Mittel von den drei zusammen im Kasten befindlichen Tieren zur Beobachtung kam.

Die drei zwischen dem 31. März und 15. April bei demselben kohlenhydratreichen Mastfutter ausgeführten 24 stündigen Respirationsversuche ergaben folgende Zahlen:

1.	29,51 CH_4	und	41,41 H_2
2.	53,01 „	„	14,71 „
3.	62,11 „	„	9,91 „
Mittel, wie oben gerechnet:	48,21 CH_4	und	22,01 H_2

Bei unverändertem Futter nimmt also die Wasserstoffbildung mehr und mehr zugunsten des Methans ab.

Weitere Erörterungen über die energetischen Verhältnisse dieser Gärungen siehe Seite 63f.

VIII. Genauere Berechnung der Stoffwechselvorgänge bei der Pansengärung.

Wir hatten (S. 38) berechnet, daß auf 186,26 ccm CO_2, die das vergorene Kohlenhydrat bei einer vollständigen Verbrennung liefern würde, 6,79 ccm CH_4 entstehen, d.h. daß 3,65% des Kohlenstoffs der Kohlenhydrate als Methan zum Vorschein kommen.

Diese Rechnung bedarf nach den Ergebnissen der Speicheluntersuchung einer Korrektur. Wir hatten die gebildeten Fettsäuren aus der Kohlensäuremenge, die aus Salzen bei der Gärung frei wurden, berechnet unter der Annahme, daß diese Kohlensäure aus Monocarbonaten frei gemacht würde, d.h. daß die gärende Lösung nach einigem Verweilen im Vakuum bei 38° nur noch Na_2CO_3 enthalte. Diese Annahme ist, wie die Speicheluntersuchung lehrt, nicht richtig. Tab. XII läßt erkennen, daß nach dem üblichen Auspumpen in der Luftpumpe bei 38° 100 ccm Speichel, deren Alkalescenz 0,609 g Soda entsprach, eine CO_2-Menge gleich 0,4021 g lieferten. Nun entsprechen 0,609 g Soda nur 0,253 g CO_2, während dieselbe Menge Alkali als Bicarbonat 0,506 g CO_2 enthalten würde. Die aus dem Speichel nach dem Evakuieren bei 38° durch Säure gewonnene Kohlensäure enthält also eine Mischung von $NaHCO_3$ und Na_2CO_3, in der ersteres Salz überwiegt.[1]) Die S. 38 berechneten Buttersäuremengen sind demnach im Verhältnis $\frac{0{,}253}{0{,}4021}$ zu verkleinern, d. h. mit dem Faktor 0,629 zu multiplizieren.

[1]) Die Tatsache, daß verdünnte Bicarbonatlösungen, wie sie im Speichel und entsprechend im Panseninhalt vorhanden sind, in der Luftpumpe nicht prompt in Na_2CO_3 und CO_2 zerfallen, war mir schon aus meinen Versuchen über die Bindung der Kohlensäure im Blute bekannt (vgl. N. Zuntz, Centralbl. f. med. Wiss. 1867, 529 und Hermanns Handb. d. Physiol. IV, 2, 65). Ich fand damals, daß es in der Blutgaspumpe bei 40° im Laufe von Tagen nicht gelingt, viel mehr als die Hälfte der locker gebundenen Kohlensäure, also $^1/_4$ der gesamten Menge, auszupumpen.

Als ich die Markoffschen Versuche in den Landw. Versuch.-Stat. 79/80. S. 785 ff. berechnete, hatte ich diese Tatsache außer acht gelassen

Die aus anorganischer Verbindung ausgetriebenen 18,03 ccm CO_2 entsprechen also einer Buttersäuremenge, die bei der Verbrennung nur . . . . . $144{,}24 \times 0{,}629 = 90{,}76$ ccm CO_2 liefern würde; hierzu kommt das Äquivalent des

Methans	. . . . .	6,79	„ „
ferner die Gärungskohlensäure	. . . . .	35,23	„ „
Der totalen Verbrennung des vergorenen Kohlenhydrats entsprechen also	. . . . .	132,78	ccm CO_2

und infolgedessen die Menge der bei der Gärung gebildeten Buttersäure zu hoch, den Anteil des Kohlenstoffs, der als CO_2 in Verlust geht, relativ zu niedrig eingesetzt. Die obenstehende, von mir korrigierte Rechnung stimmt auch viel besser als die ältere mit dem Ergebnis der Respirationsversuche von Kellner. Dieser findet, daß von der verdauten Substanz

bei Rohrzucker 2,84% des Gewichts = 4,8% des Kohlenstoffs, 9,6% der Energie als CH_4 abgespalten werde,
„ Stärke 3,17% „ „ 10% der Energie
„ Cellulose 4,46% „ „ 14% „ „

Die ältere Rechnungsweise ergibt aus den Markoffschen Versuchen auf 100 g $C_6H_{10}O_5$:

2,17 g CH_4 . . . . . 6,93% der Energie in CH_4

Die verbesserte Rechnung ergibt:

3,03 g CH_4 . . . . . 9,71% „ „ „ CH_4

stimmt also vorzüglich mit Kellners auf so ganz anderem Wege gewonnenen Befunden überein, und ebenso mit dem Ergebnis unserer eigenen Respirationsversuche (vgl. nachher S. 63 Fußnote).

Es muß aber weiter erörtert werden, ob die aufgestellte Gärungsgleichung genügend mit dem Zerfall eines Kohlenhydrats der Formel $C_6H_{10}O_5$ übereinstimmt. Aus den auf Grund der Speichelauspumpung berichtigten Zahlen für das Volumverhältnis der CO_2, die der Verbrennung von $C_4H_8O_2$ und von CH_4 entspricht, und derjenigen, welche als Gärungsprodukt ausgeschieden wird, berechnen sich folgende Atomverhältnisse:

In Buttersäure entsprechend	90,76 ccm CO_2:	45,380 C	90,76 H	22,69 O
„ CH_4	„ 6,79 „ „ :	3,395 „	13,58 „	—
„ CO_2	(35,23 ccm) :	17,615 „	—	35,23 „
		66,390 C	104,34 H	57,92 C
Die 66,39 Atome C enthaltende Menge $C_6H_{10}O_5$ besteht aus:		66,390 C	110,65 H	55,32 C
			6,31	2,60

Es würden hiernach also die Gärungsprodukte 2,60 Atome = 4,5% Sauerstoff zu viel und 6,31 Atome = 5,7% Wasserstoff zu wenig enthalten. Diese Erkenntnis führt zu einer weiteren Korrektur der Rechnung, die im folgenden gegeben ist. Zuntz.

Zur Berechnung des Energieverlustes durch die Gärung erinnern wir uns, daß bei der totalen Verbrennung

von Cellulose	1 ccm	CO_2	entspricht	= 5,041 cal
„ Buttersäure	1 „	„	„	= 5,860 „
„ Methan	1 „	„	„	= 9,501 „

Es entsprechen also die 132,78 ccm CO_2 der Cellulose: 669,3 cal
die 90,76 ccm CO_2 der Buttersäure: 531,8 „
also Energieverlust bei der Gärung: 137,5 cal
davon entfallen auf H und CH_4: 65,0 „
also auf Wärmeentwicklung bei der Gärung: 72,5 cal

Es repräsentiert demnach von dem Brennwert des
Kohlenhydrats das brennbare Gas 9,71%
die Gärungswärme 10,83%
gesamter Energieverlust durch die Gärung . 20,54%

Wir werden aber zugeben müssen, daß auch diese Rechnung noch an erheblicher Unsicherheit leidet, weil wir nicht sicher sind, daß die Zersetzung des Bicarbonats des Speichels in dem komplizierten Stoffgemisch, wie wir es im Pansen haben, ebenso verläuft, wie im reinen Speichel. Es ist im höchsten Maße wahrscheinlich, daß die Bicarbonatlösung, die nach kurzem Auspumpen im Panseninhalt noch vorhanden ist, fortschreitend dissoziiert, daß also diese Lösung auch ohne zu gären in der Pumpe ständig Kohlendioxyd abgeben würde, genau so wie es die Bicarbonatlösungen von Zuntz taten. Danach würde also die Menge der pro Einheit gebildeter organischer Säuren abgespaltenen Kohlensäure noch größer werden, als ich es eben aus dem Kohlensäuregehalt des kurze Zeit in der Luftpumpe evakuierten Speichels berechnet habe und dem Verhältnis von 1 Mol CO_2 auf 1 Mol einwertiger organischer Säure sehr nahe kommen. — Mit diesem Verhältnis wird man bei meinen neueren Versuchen, in denen ich die kalt gehaltene Kontrollprobe am anderen Tage in der Pumpe kurze Zeit evakuierte und dann durch Schwefelsäure zersetzte, rechnen können. Bei den ersten Versuchen wurde die Kontrollprobe durch längeres Kochen im Wasserbade in einem mit Wattebausch verschlossenen Kolben sterilisiert. Wieviel Kohlensäure dabei aus dem Bicarbonat entweicht, ist bisher nicht bestimmt worden. Auf alle Fälle wird aber bei diesem Verfahren die durch eine bestimmte Menge

organischer Säure frei gemachte CO_2 kleiner gefunden als bei Verwendung der gekühlten Vergleichsprobe; das Säureäquivalent nähert sich also mehr dem in der Publikation von Zuntz und seinen Mitarbeitern (Landw. Versuchsstationen **79/80**, S. 794) angenommenen Verhältnis von 1 Mol CO_2 auf 2 Mol entstandener Säure. Um diesen Unsicherheiten aus dem Wege zu gehen, habe ich auf Rat von Prof. Zuntz noch eine andere Berechnungsweise meiner Versuche durchgeführt, bei der zugleich der Fehler der bisherigen Rechnungen, der in der Fußnote S. 57 dargelegt ist, beseitigt wird. Bei der dort durchgeführten Aufteilung eines Mol $C_6H_{10}O_5$ in Buttersäure, Methan und Kohlendioxyd nach dem aus der freigemachten Kohlensäure berechneten Verhältnis fand sich in den Spaltungsprodukten zu wenig Wasserstoff und zu viel Sauerstoff. Rechnet man dagegen so, daß auf 1 Mol frei gemachter Kohlensäure 2 Mol gebildeter Fettsäure angenommen werden, so besteht in der Summe der Gärungsprodukte ein Manko an Wasserstoff und Sauerstoff; man kann dies durch die Annahme einer Wasserbildung erklären, dann aber bleibt, wenn man allen Wasserstoff hierzu heranzieht, ein Überschuß an Sauerstoff, der zur Annahme zwingt, daß noch eine sauerstoffreichere Säure, etwa Oxybuttersäure oder Milchsäure, entstanden sei.

Vieles spricht dafür, daß bei den Gärungsprozessen im Pansen auch Milchsäure gebildet wird. Wir wissen, daß die Futterstoffe stets reichlich Milchsäurebakterien enthalten, die bei einmägigen Tieren im Beginn der Magenverdauung eine rege Tätigkeit entfalten, bis sie durch die Salzsäure lahm gelegt werden. Im Pansen werden sie wohl durch die Erreger der Methangärung überwuchert, aber wohl kaum ganz unterdrückt. Ellenberger gibt an, daß man in den Vormägen der Wiederkäuer viel Milchsäure findet. — In diesem Sinne sprechen auch manche Erfahrungen, die ich bei der Gärung von Panseninhalt gemacht habe. Während das Gärungsgas gewöhnlich 10 bis über 20% CH_4 enthält, finden sich z. B. in Versuch 8, Tab. V nur 5,39% CH_4 neben 94,34% CO_2, in Vers. 11 ebenda 4,78% CH_4 und 95,22% CO_2. Noch frappanter ist der hier noch nicht im einzelnen zu gebende Vers. 25 vom 21. I. 1913; hier wurde Pansenflüssigkeit 48 Stunden lang bei etwas über 0° aufbewahrt, sie lieferte dann bei Körpertemperatur ein Gemisch

von nur 2,21% CH_4 mit 97,98% CO_2. Die ganze in 8 Stunden entwickelte Kohlensäure betrug 81,60 ccm und gleichzeitig nahm die an Alkali gebundene Kohlensäure in der gärenden Flüssigkeit um 84,7 ccm ab. Es war also gar keine Gärungskohlensäure gebildet, sondern nur CO_2 aus Carbonaten abgespalten worden, was ja charakteristisch für Milchsäuregärung ist.

Wenn wir nun annehmen, daß bei der Gärung neben Buttersäure Milchsäure gebildet wird und zunächst einmal für die aus Alkali frei gemachte CO_2 die vorher begründete Annahme machen, sie sei aus Bicarbonaten entstanden, so wird jedem Molekül entstandener organischer Säure 1 Molekül ausgetriebener CO_2 entsprechen. Die auf 10 g organischer Substanz pro Stunde entwickelten Gase waren 53,26 ccm = 2,3788 mg/Mol CO_2, 6,79 ccm = 0,30326 mg/Mol CH_4 und 0,17 ccm = 0,007593 mg/Mol H_2. Nennen wir nun die mg/Mol vergorenen Kohlenhydrats ($C_6H_{10}O_5$) = y, gebildeter $C_4H_8O_2$ = x und gebildeter Milchsäure ($C_3H_6O_3$) = z, so sind von den entwickelten 2,3788 mg/Mol CO_2 $(x + z)$ Mol aus Bicarbonat ausgetrieben; es entstammen also $(2{,}3788 - x - z)$ Mol dem zerfallenen Kohlenhydrat.

Aus dieser Erwägung und der Anzahl der Atome C, H und O in den 3 organischen Verbindungen leiten sich folgende Gleichungen für die drei am Umsatz beteiligten Elemente ab:

I. Für C: $6y = 4x + 3z + 0{,}30326 + 2{,}3788 - x - z$
II. „ H: $10y = 8x + 6z + 4 \times 0{,}30326 + 2 \times 0{,}007593$
III. „ O: $5y = 2x + 3z + 2 \times 2{,}3788 - 2x - 2z$.

Die Auflösung ergibt:

$x = 0{,}97833$ mg/Mol Buttersäure à 524,75 cal = 513,38 cal
$z = 0{,}11508$ „ „ Milchsäure à 329,7 „ = 37,94 „
$y = 0{,}9745$ „ „ $C_6H_{10}O_5$ à 677,2 „ = 659,96 „

Die durch die organischen Säuren aus Bicarbonat abgespaltene Kohlensäure beträgt

$0{,}97833 + 0{,}11508 = 1{,}09341$ mg/Mol = 24,48 ccm

Kohlensäure aus Bicarbonat.

Der Energieverlust bei der Gärung beträgt

$659{,}96 - (513{,}38 + 37{,}94) = 108{,}64$ cal = 16,46%

der Verbrennungswärme der Cellulose.

Von diesem Verlust kommen . .	64,51 cal	auf CH_4
	0,49 „	„ H_2
also auf brennbare Gase	65,00 cal	= 9,85%
und auf Gärungswärme	43,64 „	= 6,61%.

Bei Stoffwechselversuchen, in denen die 24stündige Ausscheidung der brennbaren Gase direkt bestimmt wird, ist das Verhältnis des durch sie gegebenen Energieverlustes zur Gärungswärme für die Beurteilung der nutzbaren Energie der verdauten Nahrung maßgebend; es beträgt in unserem Falle $\frac{6{,}61}{9{,}85}$, d. h. die Gärungswärme erhöht den Energieverlust, den der Körper durch Ausscheidung der brennbaren Gase erleidet, um 67,1% oder rund um $^2/_3$. Die in den „Landw. Versuchsstationen“ **79/80**, S. 795 auf 45% berechnete Größe dieses Verlustes ist zu niedrig, weil die Menge der sauren Gärungsprodukte durch die Annahme, daß sie sich mit Na_2CO_3 und nicht mit $NaHCO_3$ verbinden, zu hoch berechnet war. Die hier durchgeführte Rechnung muß der Wahrheit sehr nahe kommen, denn wenn auch zu Beginn der Gärung die Pansenflüssigkeit wie der Speichel eine Mischung von etwa 2 Mol $NaHCO_3$ und 1 Mol Na_2CO_3 darstellt, so muß doch beim mehrstündigen Verweilen im Vakuum ein Teil des $NaHCO_3$ in Na_2CO_3 umgewandelt werden, so daß die entwickelte Kohlensäure dem Verhältnis der Zersetzung von $NaHCO_3$ sich nähert.

Ich habe, um die äußerste Größe der bei dieser Berechnung möglichen Fehler kennen zu lernen, nochmals den extremen, faktisch undenkbaren Fall, daß nur Na_2CO_3 zersetzt würde, durch Ansatz entsprechender Gleichungen berechnet. Das Resultat ist, daß dann auf 6,79 ccm CH_4 1,302 56 mg/Mol vergorener Cellulose kämen, und daß daraus 1,306 36 mg/Mol Buttersäure und 0,224 42 mg/Mol Milchsäure gebildet würden. 1,530 775 mg/Äquiv. Säuren würden aus Na_2CO_3 17,14 ccm CO_2 freimachen. Es würden dann aus 882,09 Cal in der Cellulose entstehen:

	685,51 Cal	in Buttersäure
	73,99 „	„ Milchsäure
also	759,50 Cal	dem Körper zugute kommend;
	65,00 „	in Methan und Wasserstoff
	57,59 „	Gärungswärme
Summa	882,09 Cal	in der Cellulose.

Stellen wir die Ergebnisse beider Rechnungen zusammen, so haben wir folgende prozentische Verluste an Energie bei der Annahme der Zersetzung:

	In CH_4 + H_2	als Gärungswärme	Totaler Energieverlust	Gärungswärme in % der brennbaren Gase
Von $NaHCO_3$ . .	9,85	6,61	16,46	67,1
„ Na_2CO_3 . .	7,37	6,53	13,90	88,6

Wir können sicher sein, daß die erstere Rechnung den faktischen Bedingungen der Bindung der Carbonate im Panseninhalt besser entspricht als die zweite. Sie gibt auch für das Verhältnis der brennbaren Gase zum umgesetzten Kohlenhydrat eine Zahl, die dem Ergebnis der Respirationsversuche nahekommt[1]).

Jedenfalls ist die Größenordnung des Verlustes, den die Gärung bedingt, durch die mitgeteilten Versuche genügend festgelegt. Die von mir vorbereitete Kontrolle des Gärungsprozesses durch die direkte Calorimetrie nach Rubner wird eine weitere Prüfung der Richtigkeit der aus den Experimenten abgeleiteten Zahlen liefern.

Für die Seite 49 besprochenen Gärungsversuche mit dem Inhalt des Enddarms vom Schweine berechnet sich die Auf-

---

[1]) Die bei gleicher Ernährung wie die hier besprochenen Pansengärungen ausgeführten Stoffwechsel- und Respirationsversuche (vgl. Landw. Versuchsstationen 79/80, 797 u. 813) ergaben:

1. auf 5038 g verdaute Rohfaser + N-freier Extr. 270,1 l CH_4,
2. „ 5132 g „ „ + „ „ 285,2 l CH_4 + 7,9 l H_2.

Das ergibt in Wärmeeinheiten:

1. auf 21109 Cal Verlust in brennbaren Gasen 2572 Cal = 12,19 %,
2. „ 21503 „ „ „ „ „ 2740 „ = 12,74 %.

Das Resultat stimmt sehr gut mit dem von Kellner angegebenen Mittelwert von 13,7 % als Verlust, den die verdauten Kohlenhydrate durch Methanbildung erleiden. Auch diese Daten zeigen, daß die Rechnung, die eine Zersetzung des Bicarbonats in der Gärflüssigkeit annimmt, die richtigere ist, da sie einen zwar immer noch zu niedrigen Wert gibt, der aber doch dem Ergebnis der Respirationsversuche näherkommt. — Ein kleiner Teil der Differenz ist übrigens durch die S. 43 besprochenen Gärungen im Enddarm bedingt, wo ja im wesentlichen nur Cellulose gärt, die sowohl nach Kellners wie nach hier ausgeführten Bestimmungen einen höheren Gärverlust erleidet als die Stärke resp. der aus ihr gebildete Zucker.

teilung des vergärenden Kohlenhydrats auf Buttersäure und Milchsäure etwas anders, weil hier das gärende Material von vornherein sauer reagierte und deshalb die ganze entwickelte Kohlensäure als Gärprodukt anzusehen ist. Auf Grund der in Tab. XVI, S. 56 ausgeführten Mitteilung der Versuche rechnen wir mit

$$\begin{aligned} 55{,}454\,\text{l} &= 2476{,}58\ \text{mg/Mol}\ CO_2 \\ 9{,}964\,\text{l} &= 445{,}00\ \text{„}\ CH_4 \\ 3{,}964\,\text{l} &= 177{,}03\ \text{„}\ H_2 \end{aligned}$$

Nennen wir wieder die zersetzten Milligramm Moleküle $C_6H_{10}O_5 = y$, aus welchen x mg/Mol Buttersäure und z mg/Mol Milchsäure gebildet werden, so gelten folgende 3 Gleichungen:

$$\begin{aligned} &\text{I. für C:} && 6y = 4x + 3z + 2476{,}58 + 445{,}00 \\ &\text{II. „ H:} && 10y = 8x + 6z + 4 \times 445{,}00 + 2 \times 177{,}03 \\ &\text{III. „ O:} && 5y = 2x + 3z + 2 \times 2476{,}58 \end{aligned}$$

hieraus

$$\begin{aligned} y &= 1854{,}6\ \text{mg/Mol}\ C_6H_{10}O_5 \\ x &= 1943{,}1\ \text{„}\ C_4H_8O_2 \\ z &= 144{,}5\ \text{„}\ C_3H_6O_3. \end{aligned}$$

Die calorische Bilanz dieser Gärung lautet:

vergoren . . .	1854,6 mg/Mol	= 300,6 g $C_6H_{10}O_5$	= 1256 Cal
daraus gebildet	1943,1 „	= 171,0 g $C_4H_8O_2$	= 1020 „
und	144,5 „	= 13,0 g $C_3H_6O_3$	= 48 „
vom Tier verwertbar		184 g org. Säure	= 1068 Cal

Die verwertbaren Calorien betragen 85,04% vom Brennwert des Ausgangsmaterials.

Die brennbaren Gase bestehen aus:

$$\begin{aligned} 445{,}0\ \text{mg/Mol} &= 7{,}1\ \text{g}\ CH_4 = 94{,}7\ \text{Cal} \\ 177{,}0\ \text{„} &= 0{,}35\ \text{g H} = 12{,}1\ \text{„} \\ &\qquad\qquad 106{,}8\ \text{Cal} \end{aligned}$$

Die brennbaren Gase enthalten also 8,50% vom Brennwert des Ausgangsmaterials, so daß $14{,}96 - 8{,}50 = 6{,}46\%$ auf Gärungswärme entfallen.

Die analoge Berechnung der Pansengärung lieferte:

9,85% der Energie in brennbaren Gasen
und 6,61% „ „ als Gärungswärme.

Wenn wir auf Grund der faktisch im Respirationsversuch gefundenen brennbaren Gase rechnen, d. h. mit 70 l brennbarer Gase statt mit 14 l, kommen wir zur Annahme, daß $\frac{300 \times 70}{14} = 1500$ g Kohlenhydrate vergoren seien bei einer täglichen Aufnahme von 4781,4 g Stärke + Rohfaser. Es würde hiernach beinahe ein Drittel der aufgenommenen Kohlenhydrate der Gärung verfallen sein. Die „verdauten" 4524,6 g Kohlenhydrate entsprechen 18958 Cal, die 48 l CH_4 = 457 Cal und die 22 l Wasserstoff = 68 Cal, also die brennbaren Gase im ganzen 525 Cal = 2,77 % des Brennwertes der verdauten Kohlenhydrate. Bei Erhaltungsfutter mit 1580 g resorbierter Kohlenhydrate wurden 187 Cal an brennbaren Gasen ausgeschieden, das sind 2,82 % des Brennwerts der Kohlenhydrate, also ein identischer Wert.

Die bei der Gärung auftretende Wärme steht, wie oben ausgeführt, im Verhältnis $\frac{6{,}46}{8{,}50}$ zum Brennnwert der gebildeten Gase, beträgt also bei Kohlenhydratmast 399 Cal. Durch die Gärung gehen also im ganzen 399 + 525 = 924 Cal von 18958 der verdauten Kohlenhydrate verloren, das sind 4,87 %. Beim Wiederkäuer ist der entsprechende Verlust 16,46 % (vgl. S. 63). Beim Wiederkäuer dürfte aber auch fast das ganze verdaute Kohlenhydrat der Gärung unterliegen, also nur wenig oder nichts davon als Zucker resorbiert werden. In dem von uns analysierten Falle waren 5038 g N-freie Stoffe mit Einschluß der Rohfaser verdaut worden. Meine Gärungsversuche führten zu dem Schluß, daß auf 6,79 ccm CH_4 an Kohlenhydrat 0,9745 mg Moleküle vergoren wurden, das macht auf die 270,1 l CH_4 jener Versuche 6300 g $C_6H_{10}O_5$. Die Differenz zwischen 5038 und 6300 g liegt natürlich innerhalb der Unsicherheit der ganzen Berechnung, die aber immerhin zuverlässig genug ist, um uns zu überzeugen, daß beim Wiederkäuer kaum etwas von dem zur Verfügung stehenden Kohlenhydrat der Gärung entgeht.

Wir erwähnten schon S. 56, daß beim Schwein auch im Dünndarm erhebliche Gärungsprozesse ablaufen müssen. Das ergibt sich auch aus der Tatsache, daß nach meinen Wägungen Coecum und Colon der 3 Tiere mit Einschluß des oberen Teils des Mastdarms nur 776 g organische Substanz enthielten, wo-

von über 25% proteinartige Substanzen waren. Im Kot der Tiere überwiegen die letzteren noch mehr, und die Kohlenhydrate, von denen resp. deren Spaltungsprodukten noch viel im Enddarm resorbiert wird, machen nur 48% der organischen Substanz des Kotes aus[1]). Außerdem enthält der Kot 11% Fett. Wir dürfen daher den Kohlenhydratanteil der 776 g organische Substanz auf höchstens 500 g veranschlagen. Da aber, wie wir gesehen haben, bei den mit reichlich Kohlenhydraten gemästeten Schweinen rund 1500 der Gärung unterliegen, müssen etwa 1000 g im Dünndarm gären. Die bei der Nachgärung der Coecum- und Colonmassen entwickelten brennbaren Gase waren 14 l pro 24 Stunden; die Dünndarmgärung würde dem Gesagten zufolge noch 28 l liefern, das macht zusammen 42 gegenüber 70 l, die die lebenden Tiere lieferten. Die Schädigung der Gärung im postmortalen Versuche ist also nicht so groß, wie es auf den ersten Blick schien.

Wenn wir nun auch die quantitativen Verhältnisse der Gärung im Pansen betrachten, so ergibt sich aus dem Schlachtbefund von 68,06 kg Inhalt von Pansen und Haube mit 18,27% Trockensubstanz ein Vorrat von 12,43 kg lufttrockne Substanz, wovon nach direkter Bestimmung 9,27 kg organische Substanz waren. Wir hatten nun (Tab. X) auf 10 g organische Substanz in der Stunde 6,79 ccm, also pro 24 Stunden 163 ccm CH_4 entstehen sehen, das macht auf 9,27 kg Substanz 151 l.

Die 24stündige Methanausscheidung war im Mittel der zugehörigen Respirationsversuche 277 l; hiervon entfallen nach den S. 44 besprochenen Versuchen

rund 4 l auf den Enddarm
„ 8 l „ „ Psalter
im ganzen 12 l;

dieser Wert ist aber, wie S. 45 dargelegt, ein Minimalwert; die faktische Pansengärung lieferte also vielleicht 250 l, d. h. etwa 65% mehr als im Gärungsversuch durchschnittlich gefunden wurde. Einzelne Gärungsversuche aber, wie z. B. der vom 8. VI. 1912, sowie vom 19. und 20. VII. ergaben 10 bis 11 ccm CH_4 pro Stunde auf 10 g organische Substanz, das sind 264 bis 290 l für den Inhalt der zwei ersten Vormägen. Unter

[1]) v. d. Heide und Klein, diese Zeitschr. 55, 210.

günstigen Bedingungen erreicht also die von uns studierte Gärung außerhalb des Körpers dieselbe Intensität wie im lebenden Organismus; daß sie bei den unvermeidlichen Schädigungen durch Abkühlung, Berührung mit der Luft und vor allem infolge der nachgewiesenen Schädigung durch die Auspumpung der Kohlensäure im Durchschnitt hinter diesem Wert zurückbleibt, ist durchaus verständlich.

Schließlich haben wir uns noch zu fragen, wie weit die durch den Speichel gelieferte Alkalimenge zur Neutralisation der gebildeten Säuren ausreicht, resp. wie groß der durch die saure Reaktion des Psalterinhalts nachgewiesene Überschuß an Säuren ist?

Nach der für den Panseninhalt S. 61 aufgestellten Gärungsformel entstehen bei Bildung von 6,79 ccm CH_4

0,9783 mg/Mol Buttersäure
und 0,1151 „ Milchsäure
1,0934 mg/Mol organische Säure,

die zu ihrer Neutralisation die Hälfte = 0,547 mg/Mol = 58 mg Soda brauchen. Rechnen wir wieder mit einer Tagesproduktion von 250 l CH_4 im Pansen, so waren zur Neutralisation erforderlich $\frac{58 \times 260}{6{,}79} = 2220$ g Soda, das ist etwa 7 mal so viel, als mit dem Speichel zur Verfügung stehen dürfte. Man müßte demnach erwarten, daß der Panseninhalt sauer reagiere. In der Tat fanden wir aber den Panseninhalt direkt nach dem Tode schwach alkalisch, entsprechend 0,14 % Soda; in der Haube, d. h. dem Teil, in den der stark alkalische Speichel gelangt, war die Alkalinität noch etwas stärker, entsprechend 0,21 % Soda, während die Massen im angrenzenden Teile des Psalters schon schwach sauer waren und auf der Wanderung zum Labmagen eine Acidität entsprechend 7,7 ccm $^n/_5$-Lauge angenommen hatten. Die Untersuchung des Speichels (Tabelle XII) hatte ergeben, daß sein Alkaligehalt in 100 g äquivalent 0,609 g Soda war und daß er dabei nach Auspumpen der freien Gase 0,4021 g = 204,6 ccm CO_2 enthielt. Nach diesem Verhältnis würde der nach dem Schlachten gewonnene gemischte Panseninhalt mit 0,14 % Soda an gebundener Kohlensäure 47 ccm beherbergen, der mehr mit Speichel gemischte Haubeninhalt 70,6 ccm. Diesem Befunde entsprechen auch die Kohlensäure-

mengen, die aus dem für die Gärungsversuche ausgeheberten Panseninhalt durch Schwefelsäure freigemacht wurden. Ich stelle diese Werte, berechnet auf 100 g Panseninhalt, in Tabelle XVII, und zwar gesondert für den dünnflüssigen an Speichel reicheren und für den breiigen Anteil zusammen.

Tabelle XVII.

Durch Schwefelsäure aus vorher ausgepumptem Material gewonnene Kohlensäure.

Nr.	Datum des Versuchs	Dünnflüssiges		Brei	
		Untersuchtes Material	CO_2 in 100 ccm	Panseninhalt	CO_2 in 100 ccm
18	24. VII. 1912	Speichel Panseninhalt	205	—	—
7	30. IV.	3½ Std. gegor. Panseninhalt	112	—	—
8	9. V.	frisch	70	frisch	35
9	18. V.	do.	59	„	43
19	8. V.	do.	39	„	9
11	9. VI.	do.	99	„	47
14	25. VI.	do.	34	„	12
15	28. VI.	do.	86	„	27
16	19. VII.	do.	76	„	11
17	20. VII.	6 Std. gegoren	74	„	11
20	10. XII.	4 „ „	115	„	—

Es geht aus dieser Zusammenstellung hervor, daß der ausgeheberte relativ dünnflüssige und an Speichel reiche Panseninhalt sehr wechselnde Überschüsse von Alkali enthält, aber im höchsten Falle etwa halb soviel wie der Speichel. Dabei ist zu bedenken, daß die Einführung der Schlundsonde eine starke Speichelsekretion anregt, die wohl die hohen Werte in Nr. 7, 11, 20 bedingt. Die niedrigen Zahlen, die besagen, daß der bei weitem größte Teil des mit dem Speichel zugeflossenen Alkali verbraucht war, dürften mehr dem normalen Zustand entsprechen. Immerhin bleibt es unaufgeklärt, wo die der Rechnung nach gebildeten großen Säuremengen geblieben sind. Man wird daran denken müssen, daß ein Teil der gebildeten Säuren, wenn das Alkali verbraucht ist, Anhydride bildet; bei Milchsäure kommt es ja sehr leicht zu solcher Anhydridbildung. Es sei ferner daran erinnert, daß, wie S. 7 nachgewiesen wurde, gewisse Mengen alkoholartiger, also neutraler Stoffe gebildet werden. Wenn es an Alkali fehlt, wird der nascierende Wasserstoff einen Teil der Säuren zu Alkoholen

reduzieren. Weder die Alkohol- noch die Anhydridbildung bedeuten eine wesentliche Verschiebung der energetischen Verhältnisse bei der Gärung. Der Nutzwert der Produkte wird durch die Reduktion der Säuren zu Alkohol etwas erhöht.

Im Sinne der eben dargelegten Deutung spricht der Umstand, daß die Menge der aus Alkali bei der Gärung freigemachten Kohlensäure nur in der gärenden Flüssigkeit der entwickelten Formel annähernd entspricht, im alkaliarmen Brei aber weit hinter dem berechneten Wert zurückbleibt.

Die Flüssigkeit lieferte (vgl. Tabelle X) auf 1 ccm CH_4 5,19 ccm Gärungskohlensäure und 2,66 ccm CO_2 aus Carbonaten, der Brei auf 1 ccm CH_4 4,57 ccm Gärungs- und nur 0,89 ccm Carbonatkohlensäure. Es müssen also im Brei viel mehr neutrale Produkte entstanden sein.

In bezug auf den Verbleib der Gärungsprodukte schließt also diese Arbeit mit einer weiterer Untersuchung vorzubehaltenden Ungewißheit ab, andererseits hat sie doch eine Reihe sicherer Befunde geliefert.

Die Tatsache, daß die Hauptmenge der Kohlenhydrate, solange die gärende Masse alkalisch reagiert, in Säuren vom mittleren Molekulargewicht der Buttersäure übergeht, ist wohl gesichert und die dabei in Form brennbarer Gase und von Gärungswärme stattfindenden Energieverluste sind mit genügender Schärfe ermittelt. Es ist ferner die Verteilung der Gärung auf die einzelnen Abschnitte des Verdauungskanals beim Wiederkäuer und beim Schwein festgelegt. Endlich wurden genügend genaue Zahlen für den Einfluß, den leichtlösliche Kohlenhydrate einerseits, Amide und Peptone andererseits auf die Gärungsprozesse haben, gewonnen.

Aufgabe weiterer Untersuchungen soll es sein, die Wärmetönung bei der Gärung genauer zu bestimmen und noch weiteren Einblick in die Natur der unter verschiedenen Verhältnissen gebildeten Produkte zu gewinnen. Ferner soll der S. 31 in einem einzelnen Versuch demonstrierte Einfluß der Kohlensäure und damit der H-Ionengehalt der Flüssigkeit auf den Verlauf der Gärung weiter verfolgt werden.

Die Wirkungsbedingungen der Maltase aus Bierhefe. I.

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 20. September 1913.)

Mit 8 Figuren im Text.

Über die Bedingungen, welche die Wirkung der Maltase auf die Maltose beeinflussen, ist noch recht wenig bekannt. Man wendet im allgemeinen die Maltase in Form der schwach sauer reagierenden Hefeauszüge an und findet sie in dieser Form gut wirksam; daraus geht hervor, daß ein gewisser Grad von Acidität für die Wirkung der Maltase vorteilhaft ist. In neuerer Zeit hat nur Kopaczewski[1]) genauere Untersuchungen über die Maltase der „Taka-Diastase" angestellt. Seine zahlreichen Versuche benutzt er zu der Schlußfolgerung, daß die optimale Wirkung der Maltase einer gewissen Acidität der Lösung bedarf, daß aber die Konzentration der Wasserstoffionen nicht allein das Maßgebliche sei, sondern daß bei verschiedenen Säuren das Optimum bei einer verschiedenen Konzentration der $H^{\cdot}$-Ionen gelegen sei; er schreibt daher auch den Anionen der Säure eine wesentliche Rolle zu. Kopaczewski hat aber nicht den Versuch gemacht, die Wasserstoffionenkonzentrationen seiner verschiedenen Säurelösungen zu messen oder nur zu berechnen; das letztere ist allerdings bei dem unbekannten Eigengehalt an Säuren und Salzen der Fermentlösungen auch kaum durchführbar, und ohne elektrometrische Messungen der $H^{\cdot}$-Konzentration ist die von uns gestellte Auf-

[1]) W. Kopaczewki, Einfluß verschiedener Säuren auf die Hydrolyse der Maltose durch Maltase. Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 182, 1912.

gabe ganz undurchführbar. Die Angaben von Kopaczewski bedürfen also einer Ergänzung unter Berücksichtigung der Wasserstoffionenkonzentration. Denn mögen auch seine Angaben über den Einfluß aller möglichen Elektrolyte zutreffen, den größten Einfluß haben von allen Ionen zweifellos die H·-Ionen.

1. Einfluß der H·-Ionen.

Unsere Erfahrungen bei anderen Fermenten benutzend, war der Plan, den Einfluß der Wasserstoffionen einerseits, den der anderen Ionen andererseits zu untersuchen. Um die reine Wirkung der H·-Ionen zu studieren, hielten wir innerhalb jeder einzelnen Versuchsreihe die Konzentration aller anderen Ionen konstant. Dies wurde erreicht, indem allen Lösungen zunächst eine bestimmte Menge von Natriumacetat hinzugefügt wurde. Hierbei stellt sich, in Kombination mit den im Hefenextrakt an sich schon vorhandenen Säuren oder sauren Salzen, eine gewisse, sehr schwach saure Reaktion ein. Um nun die H·-Ionen zu vermehren, wurde Essigsäure in steigenden Mengen zugefügt, wodurch zwar die H·-Ionen relativ vermehrt werden können, die Acetationen aber relativ nur äußerst unbedeutend anwachsen, weil das meiste der zugesetzten Essigsäure undissoziiert bleibt und sich wie ein Nichtelektrolyt verhält. Um die Acidität aber zu verringern, wurden zu den Acetatlösungen kleine Mengen von NaOH zugefügt. Schon sehr kleine Mengen von NaOH, welche die Na·-Konzentration der Acetatlösungen kaum merklich vermehren, vermindern die H·-Ionenkonzentration sehr bedeutend, so daß wir praktisch auf diese Weise einen weiten Bereich von H·-Ionenkonzentrationen umspannen, ohne die übrigen Ionen in ihrer Konzentration merklich zu ändern.

Als Maltase wurde ein nach der Vorschrift von Emil Fischer hergestellter wässeriger Auszug aus untergäriger Bierhefe angewendet[1]). Obergärige (Weißbier-)Hefe enthielt nur sehr unbedeutende Mengen von Maltase, deren Verhalten übrigens der der Unterhefe prinzipiell völlig gleich war. Der flüssige Hefebrei wurde mit dem Pukallfilter abgesaugt, die Hefemasse gewaschen und zunächst auf Tontellern an der Luft,

[1]) E. Fischer, Bedeutung der Stereochemie für die Physiologie. Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 74, 1898.

dann auf Glasschalen im lauwarmen Luftstrom völlig getrocknet. Für den Versuch wurde jedesmal 1 Gewichtsteil der trockenen Hefe mit 10 Teilen Wasser einige Zeit geschüttelt und 24 Stunden im Brutschrank bei 37° ausgelaugt, sodann zentrifugiert oder filtriert. Die Auszüge wurden täglich frisch bereitet; einige Proben erwiesen sich aber viele Tage unverändert haltbar, solange man sie bei der natürlichen, leicht sauren Reaktion des Hefeauszuges stehen ließ. Bei jeder anderen Reaktion geht das Ferment aber schnell zugrunde. Die Einwirkung auf die Maltose geschah stets im Wasserbad bei 38° $\pm$ 0,05, der Umsatz wurde nach der Bertrandschen Reduktionsmethode bestimmt, indem von Zeit zu Zeit Proben von 5 ccm abgenommen und in ein

Tabelle I.

Vers. Nr.	Regulatorgemisch	[H] gemessen	p_H	Zeit Min.	Permanganatumsatz ccm
I. 1.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ n-Essigsäure	$4{,}2 \cdot 10^{-6}$	5,38	100 220	0,95 1,85
2.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,3 „ n-Essigsäure	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	5,86	60 100 220	2,35 3,00 3,52
3.	4,0 ccm n-Natriumacetat	$2{,}1 \cdot 10^{-7}$	6,68	60 100 220	2,60 3,15 3,75
4.	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ 0,1 n-NaOH	$6{,}6 \cdot 10^{-8}$	7,18	60 100 220	2,45 3,15 3,80
5.	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,0 „ 0,1 n-NaOH	$1{,}9 \cdot 10^{-8}$	7,71	100 220	0,04 0,30
II. 6.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ n-Essigsäure	$4{,}2 \cdot 10^{-6}$	5,38	60 150	0,90 1,10
7.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,3 „ n-Essigsäure	$1{,}6 \cdot 10^{-6}$	5,80	30 60 100	1,05 1,50 2,10
8.	4,0 ccm n-Natriumacetat	$1{,}8 \cdot 10^{-7}$	6,75	30 60 100	1,27 2,15 2,40
9.	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ 0,1 n-NaOH	$3{,}1 \cdot 10^{-8}$	7,51	30 100 150	0,53 0,77 0,88
10.	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,0 „ 0,1 n-NaOH	$2{,}2 \cdot 10^{-9}$	8,66	150	0,45

Tabelle I (Fortsetzung).

Vers. Nr.	Regulatorgemisch	[H] gemessen	p_H	Zeit Min.	Permanganatumsatz ccm
III.11.	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,0 „ n-Essigsäure	$9{,}6 \cdot 10^{-6}$	5,02	75 230	0,00 0,00
12.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ n-Essigsäure	$3{,}2 \cdot 10^{-6}$	5,50	70 120	2,30 3,20
13.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$7{,}2 \cdot 10^{-7}$	6,14	30 160	3,00 4,40
14.	4,0 ccm n-Essigsäure	$2{,}6 \cdot 10^{-7}$	6,59	30 70 260	2,90 3,35 4,70
15.	4,0 ccm n-Essigsäure 0,4 ccm $^n/_{100}$-NaOH	$2{,}6 \cdot 10^{-7}$	6,58	70	3,32
IV.16.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ n-Essigsäure	$3{,}5 \cdot 10^{-6}$	5,45	150	2,70
17.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ 0,1 n-Essigsäure	$4{,}5 \cdot 10^{-7}$	6,35	120	3,40
18.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,27 „ 0,1 n-Essigsäure	$3{,}2 \cdot 10^{-7}$	6,49	120	3,53
19.	4,0 ccm n-Natriumacetat	$2{,}5 \cdot 10^{-7}$	6,60	80	3,10
20.	0,5 ccm $^m/_3$-prim. Na-Phosph. 0,5 „ $^m/_3$-sek. „	$2{,}2 \cdot 10^{-7}$	6,66	60	2,38
V. 21.	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,8 „ n-Essigsäure	$3{,}9 \cdot 10^{-6}$	5,41	65 226 492	0,23 0,85 1,00
22.	5,00 ccm $^m/_3$-prim. Phosphat 0,25 „ $^m/_3$-sek. „	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	5,85	120 425	1,72 2,60
23.	2,5 ccm $^m/_3$-prim. Phosphat 2,5 „ $^m/_3$-sek. „	$2{,}3 \cdot 10^{-7}$	6,64	364	3,10
24.	0,5 ccm $^m/_3$-prim. Phosphat 0,5 „ $^m/_3$-sek. „	$2{,}7 \cdot 10^{-7}$	6,57	189 396	2,25 2,90
25.	0,25 ccm $^m/_3$-prim. Phosphat 5,00 „ $^m/_3$-sek. „	$5{,}5 \cdot 10^{-8}$	7,26	60 163 458	0,45 1,17 2,00
VI.26.	8,0 ccm n-Natriumacetat 1,6 „ n-Essigsäure	$4{,}4 \cdot 10^{-6}$	5,35	120 240	1,20 2,00
27.	8,0 ccm n-Natriumacetat 0,0 „ n-Essigsäure	$1{,}8 \cdot 10^{-7}$	6,75	60 120 240	2,80 3,70 4,50
28.	8,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ 0,1 n-NaOH	$1 \cdot 10^{-7}$	7,00	60 240	2,60 4,25

Kölbchen mit 20 ccm der Bertrandschen Kupferlösung gegeben wurden. Hierdurch wird die Fermentwirkung vollkommen unterbrochen, wie Parallelversuche zeigten, die teils sofort, teils nach 1 bis 2 Stunden mit der Seignettelösung versetzt und reduziert wurden. Die Versuche ergaben nun folgendes.

Jede Probe enthielt 20 ccm 2%ige Maltoselösung, 5 ccm des Hefeauszuges und das Regulatorgemisch (s. Tabelle). Das Volumen wurde in allen Proben mit dest. Wasser auf 40 ccm ergänzt.

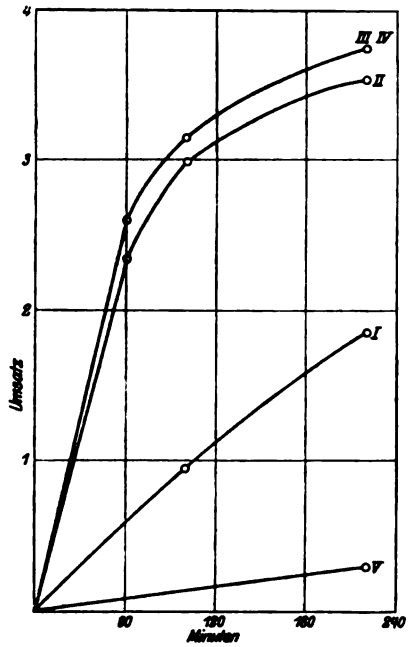


Fig. 1.

Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}38$ $III = 6{,}68$
$II = 5{,}86$ $IV = 7{,}18$
$V = 7{,}71$
In Kurve *III/IV* gilt jeder der drei Beobachtungspunkte sowohl für *III* wie für *IV*.

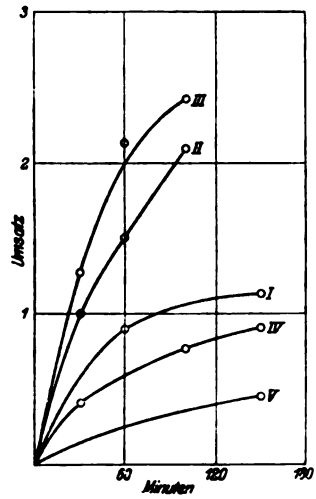


Fig. 2.

Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}38$
$II = 5{,}80$
$III = 6{,}75$
$IV = 7{,}51$
$V = 8{,}66$

Das Optimum der Maltasewirkung liegt daher bei einem p_H von etwa 6,1 bis 6,8, und zwar derart, daß man innerhalb

dieses Gebietes zweifellose Unterschiede nicht feststellen kann; es ist aber wahrscheinlich, daß 6,6 dem wahren Optimum am nächsten kommt. Überschreitet man aber diese Grenzen, so tritt ein rapider Abfall der Wirkung ein. Dieser Abfall ist viel steiler, als es bei allen bisher von uns untersuchten Fer-

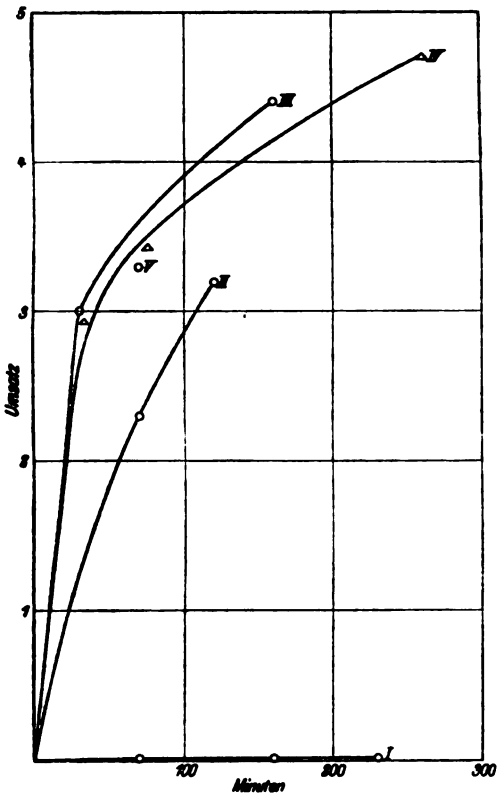


Fig. 3.
Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}02$ $III = 6{,}14$
$II = 5{,}50$ $IV = 6{,}59$
$V = 6{,}58$

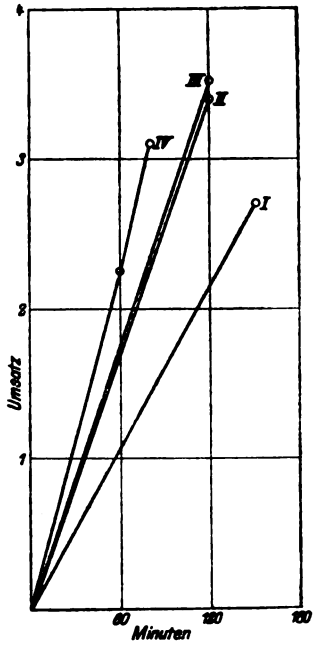


Fig. 4.
Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}45$ $III = 6{,}49$
$II = 6{,}35$ $IV = 6{,}66$

menten der Fall war. Hätten wir zufällig mit diesem Ferment unsere Studien über den Einfluß der H·-Ionenkonzentration auf die Fermente begonnen, so wären wir wahrscheinlich niemals zu der einfachen Auffassung gelangt, die die Versuche mit dem Invertin geradezu aufdrängten.

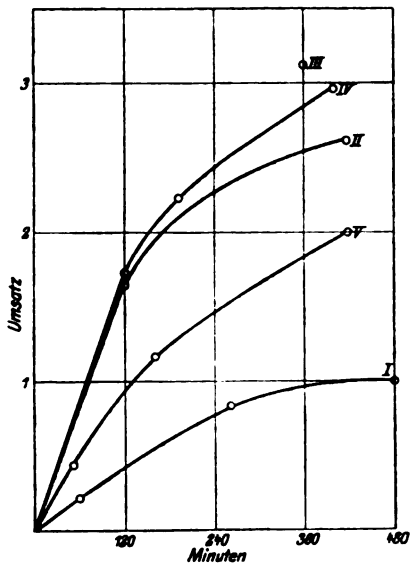


Fig. 5.

Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}41$ $III = 6{,}64$
$II = 5{,}85$ $IV = 6{,}57$
$V = 7{,}26$

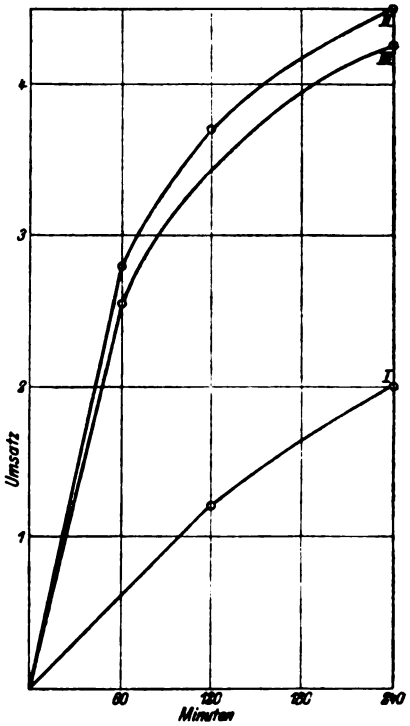


Fig. 6.

Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 5{,}35$
$II = 6{,}75$
$III = 7{,}00$

Der Einfluß anderer Ionen wurde dadurch untersucht, daß zu Maltoselösungen, die sich bei einer optimalen H·-Konzentration befanden, Salze zugefügt wurden, die die H·-Konzentration nicht wesentlich verschoben, und zweitens dadurch, daß die H·-Konzentration statt mit Acetatgemischen, mit Phosphatgemischen reguliert wurden.

Wir haben die Untersuchungen über den Einfluß der Salze vorläufig auf einige Beispiele beschränkt und werden diese Frage in einer folgenden Arbeit weiter verfolgen. Aus dem mitgeteilten Material können wir aber schließen, daß jedenfalls kein irgendwie nennenswerter, grob erkennbarer Einfluß der untersuchten Anionen (Cl', Acetat, Phosphat, NO_3', SO_4'') und der Kationen (Na, K) bei niederen Konzentrationen erkennbar

ist. Ein scheinbarer hemmender Einfluß des Ca wird dadurch befriedigend erklärt, daß Ca-Salze einen Niederschlag in der Fermentlösung erzeugen und, wie die elektrometrische Messung zeigt, gleichzeitig die H'-Konzentration vermehren, offenbar weil irgendein schwerlösliches Salz des Calciums mit einer schwachen Säure ausgefällt wird. Natürlich sind bei dieser Untersuchung Schwermetallsalze, die Fällungen mit dem Ferment geben und es zerstören könnten (s. oben Kupfersalz!), nicht mit berücksichtigt worden. Von letzteren abgesehen, haben also nach unseren bisherigen Erfahrungen von allen Ionen die H'- bzw. OH'-Ionen bei weitem den größten Einfluß auf die Fermentwirkung. Der in höheren Konzentrationen deutlich erkennbare Einfluß der anderen Ionenarten wird später genauer mitgeteilt werden.

Tabelle II.

In einer Versuchsreihe wurde zu je 20 ccm 2%iger Maltoselösung 1,33 ccm n-Natriumacetat, 3 ccm Fermentlösung, dann je 4 ccm von a) 0,5 n-NaCl, b) 0,5 n-$NaNO_3$, c) 0,5 n-Na_2SO_4, d) 0,5 n-KCl, e) 0,5 n-$CaCl_2$, f) 0,5 n-NaBr zugefügt. Im Versuch a_1 war außer Natriumacetat kein Salz zugefügt worden. Das Gesamtvolumen der einzelnen Proben betrug 40 ccm. Die umgesetzten Permanganatmengen waren in den einzelnen Versuchen:

Zeit in Minuten	a_1	a	b	c	d	e	f
50	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	0,3	0,9
110	1,6	1,5	1,6	1,6	1,6	0,4	1,6

Von Interesse war nun noch die Reaktion der einfachen Hefeauszüge selbst, von denen ja bekannt ist, daß sie eine gute Maltasewirkung zeigen. Es fand sich darin

$$p_H = 6{,}32,$$

also noch in das Bereich der optimalen H'-Konzentration fallend.

2. Die Haltbarkeit der Maltase bei verschiedenen H'-Konzentrationen.

Der Abfall der Maltasewirkung, wenn man die optimale H'-Konzentration über- oder untersteigt, war so steil, daß eine „Dissoziationskurve" wie bei der Invertase, dem Trypsin, der Lipase nicht zu konstruieren war. Man könnte zunächst daran denken, daß der Grund hierfür darin zu suchen wäre, daß das

Zeitgesetz, das die Grundlage für die Beurteilung des wirksamen Teiles des Ferments bildet, wonach die Zeiten gleichen Umsatzes sich umgekehrt wie die Fermentmengen verhalten, hier nicht gültig wäre. Dies ist jedoch nicht der Fall, wie der folgende bei der optimalen H'-Konzentration verlaufende Versuch zeigt (Fig. 7). Trägt man das Produkt Fermentmenge × Versuchsdauer als Abszisse, den Umsatz als Ordinate auf, so liegen alle Punkte auf einer Kurve (vgl. Fig. 8).

Die Fermentmengen A, B, C, D verhielten sich wie 6:4:3:2. p_H in allen Versuchen 6,67.

Tabelle III.

Fermentlösung	Zeit in Minuten	Permanganat-Umsatz ccm	Fermentkonzentration × Zeit
A	10	1,30	60
	60	2,70	360
B	15	1,25	60
	45	2,25	180
	90	3,00	360
C	20	1,45	60
	60	2,35	180
	120	2,95	360
D	30	1,50	60
	90	2,40	180
	180	2,90	360

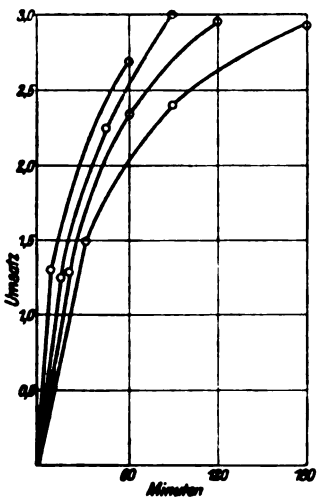


Fig. 7.

Im Anschluß an die Erfahrungen, die wir bei der absteigenden Art der Invertinkurve gemacht hatten, drängte sich nun die Vermutung auf, daß die nicht-optimalen H'-Konzentrationen nicht nur einen Teil des Fermentes in eine inaktive Modifikation gemäß den Regeln des Massenwirkungsgesetzes umwandeln, sondern daß sie das Ferment gleichzeitig zerstören. Diese Vermutung wurde durch folgende Versuchsanordnung bestätigt. Maltaselösungen wurden durch Acetatgemische auf ver-

schiedene [H·] gebracht, 2 Stunden im Wasserbad von 38° belassen und nunmehr alle auf die optimale H·-Konzentration gebracht und gleichzeitig mit Maltose versetzt. Es zeigte sich, daß alle bei nicht-optimaler [H·] aufbewahrten Fermentlösungen eine irreversible Zerstörung erlitten hatten, die um so weiter vorgeschritten war, je weiter sich die [H·] von der optimalen entfernt hatte.

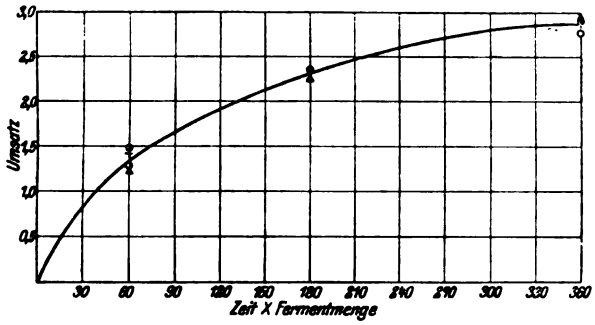


Fig. 8.

1. 3 ccm Fermentlösung wurden mit 4 ccm n-Natriumacetat versetzt. $p_H = 6{,}73$. Nach 2 Stunden werden 1 ccm n-Natriumacetat, dann noch 20 ccm 2%ige Maltoselösung und 12 ccm Wasser zugefügt. $p_H = 6{,}84$. Der Umsatz betrug in Kubikzentimeter Permanganat nach einer $^1/_2$ Stunde 1,85, nach $1\,^1/_2$ Stunden 2,90 ccm.

2. 3 ccm Fermentlösung wurden mit 4 ccm n-Natriumacetat und 1 ccm n-Essigsäure versetzt. $p_H = 5{,}26$. Nach 2 Stunden wurden 1 ccm n-NaOH, dann 20 ccm 2%ige Maltoselösung und 11 ccm Wasser zugefügt. $p_H = 6{,}82$. Der Umsatz betrug in Kubikzentimeter Permanganat nach $^1/_2$ Stunde 1,15, nach $1\,^1/_2$ Stunden 1,78 ccm.

3. 3 ccm Fermentlösung wurden mit 4 ccm n-Natriumacetat und 1 ccm 0,1 n-NaOH versetzt. $p_H = 7{,}92$. Nach 2 Stunden wurden 1 ccm 0,1 n-Essigsäure und 0,9 ccm n-Natriumacetat, ferner 20 ccm 2%ige Maltoselösung und 10,1 ccm Wasser hinzugefügt. $p_H = 6{,}74$. Der Umsatz betrug nach $^1/_2$ Stunde 0,8, nach $1\,^1/_2$ Stunden 1,70 ccm Permanganat.

4. 3 ccm Fermentlösung wurden mit 4 ccm n-Natriumacetat und 1,5 ccm 0,1 n-NaOH versetzt. $p_H = 8{,}61$. Nach 2 Stunden wurden 1,5 ccm 0,1 n-Essigsäure und 0,85 ccm n-Natriumacetat, ferner 20 ccm 2%ige Maltoselösung und 9,15 ccm Wasser hinzugefügt. $p_H = 6{,}71$. Der Umsatz betrug nach $^1/_2$ Stunde 0 ccm, nach $1\,^1/_2$ Stunden 0 ccm Permanganat.

Dies ist ein Verhalten, das sich bei keinem der bisher untersuchten Fermente fand und die Maltase mit Recht in den Ruf eines sehr labilen Fermentes gebracht hat. Bei der In-

vertase hatte eine Verminderung der optimalen [H·] über eine gewisse Grenze keinen Einfluß auf die Haltbarkeit (nur auf die Wirksamkeit); dagegen wirkte eine Erhöhung der [H·] über die optimale Zone hinaus irreversibel zerstörend. Bei der Maltase findet sich diese letztere Erscheinung also nach beiden Seiten hin.

8. Überführungsversuche.

Um die gewonnenen Resultate einer Deutung zugänglich zu machen, mußte die Wanderung im elektrischen Stromfeld untersucht werden. Freilich waren hier die Chancen einer allseitigen gründlichen Untersuchung gering, weil die Maltase nur bei der [H·], die ihrem Wirkungsoptimum entspricht, haltbar genug ist, um die Zeit eines solchen Versuches zu überdauern. Wir mußten uns daher auf diese Versuche beschränken. Sie ergaben als eindeutiges Resultat, daß die Maltase bei der [H·] ihres Wirkungsoptimums anodisch wandert.

Versuch 1. Zur Überführung wurden 40 ccm Fermentlösung mit 60 ccm 0,1 n-Natriumacetat vermischt. Als Seitenflüssigkeit dient dieselbe vorher abgekochte, filtrierte Lösung. p_H in Mittelgefäß 6,51, im Seitengefäß 6,55. Versuchsdauer $1^1/_2$ Stunden. Nach Unterbrechung des Stromdurchgangs wird die Flüssigkeit in den Seitengefäßen mit je 0,5 g Maltose versetzt und in je 1 ccm Flüssigkeit sofort, dann nach 20 Stunden die Zuckermenge bestimmt. Die Zunahme der verbrauchten Permanganatmenge in der anodischen Flüssigkeit betrug 0,58 ccm, in der kathodischen 0 ccm.

Versuch 2. 85 ccm Fermentlösung werden mit Wasser auf 145 ccm aufgefüllt, sonst kein Salzzusatz. Als Seitenflüssigkeit wird dieselbe aufgekochte Flüssigkeit benutzt. p_H in der Mittelflüssigkeit 6,47, in der Seitenflüssigkeit 6,52. Dauer der Überführung 6 Stunden. Sonst wie oben verfahren. Zunahme der verbrauchten Permanganatmenge in der Flüssigkeit im Anodenraum 1,45 ccm, in der im Kathodenraum 0 ccm.

Versuch 3. Anordnung wie im Versuch 2. Zunahme der verbrauchten Permanganatmenge in der anodischen Flüssigkeit 1,15 ccm, in der kathodischen 0 ccm.

Versuch 4. Die Fermentlösung wird zur Hälfte verdünnt und mit Natriumacetat bis zu $^n/_{40}$ versetzt. p_H in der Mittelflüssigkeit 6,52, in der Seitenflüssigkeit (mit aufgekochtem Ferment) 6,55. Versuchsdauer $2^3/_4$ Std. Zunahme der verbrauchten Permanganatmenge in der anodischen Flüssigkeit 1,4 ccm, in der kathodischen 0 ccm.

Versuch 5. Versuchsanordnung wie im Versuch 4. Zunahme der verbrauchten Permangantmenge in der anodischen Flüssigkeit 1,31 ccm, in der kathodischen 0 ccm.

4. Fällungsversuche.

Schon bei den beschriebenen Versuchsreihen war uns aufgefallen, daß bei steigender Ansäuerung in den klaren Fermentlösungen eine Trübung entstand. Es wurden deshalb eigens daraufhin Versuche angestellt, um das Fällungsoptimum dieses Niederschlags festzustellen.

Tabelle.

	1	2	3	4	5	6	7
n-Natriumacetat . . .	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
n-Essigsäure	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
Wasser	6,3	6,2	6,0	5,2	4,8	3,2	0
Ferment	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
sofort	0	+	++	+++	+++	+++	++
nach 2 Minuten	0	+	++	+++	(×)	×	++
„ 5 „	0	+	++	+++	×	××	++
„ 15 „	0	+	++	×	××	××	++
„ 30 „	0	+	×	××	×××	××××	++

+ bedeutet Trübung, × Niederschlag.

Es zeigt sich also, daß durch weitere Ansäuerung der an sich schon sauren, klaren Maltaselösung ein massiger Niederschlag entsteht, dessen Fällungsoptimum ungefähr einer $[H^{\cdot}] = 6 \cdot 10^{-5}$ entspricht. Es handelt sich offenbar um einen nucleoproteidartigen Körper, der ausfällt. Derselbe läßt sich durch Zentrifugieren leicht von der Flüssigkeit trennen und geht wieder glatt in Lösung, sobald man ihn in Wasser aufschwemmt und dasselbe leicht alkalisch macht ($[H^{\cdot}] = 10^{-8}$ bis 10^{-9}). Bei $[H^{\cdot}] = 10^{-7}$ suspendiert sich der Niederschlag ganz gut, geht auch teilweise wieder in Lösung, aber nicht vollkommen. Wenn man die abgegossene Flüssigkeit und die Lösung des Niederschlags einzeln auf die optimale $[H^{\cdot}]$ bringt und auf Maltasewirkung prüft, so erweist sich in beiden Fraktionen das Ferment als größtenteils zerstört; in anderen Fällen finden sich in der Niederschlagsfraktion noch kleine Reste von wirksamem Ferment.

1. 3 ccm n-Natriumacetat, 9 ccm n-Essigsäure, 9 ccm Wasser und 3 ccm Fermentlösung werden vermischt und auf 37° angewärmt. Sofort entsteht eine schöne Flockung. Nach dem Verweilen des Gemisches 10 Minuten im Brutschrank setzen sich dicke Flocken ab, die sofort abzentrifugiert werden. Der Niederschlag wird mit Phosphatgemisch auf eine gegen Lackmuspapier neutrale Reaktion gebracht; abgehobene Flüssigkeit

(23 ccm) wie auch der suspendierte Niederschlag werden auf 42 ccm aufgefüllt; ebenso die Kontrollösung (3 ccm Ferment ohne Ansäuerung auf gleiches Volumen gebracht). Sämtliche Proben erhalten durch leichtes Ansäuern die optimale oder der optimalen nahe liegende Reaktion. p_H in der Kontrollösung a) 6,00, in der abgehobenen Flüssigkeit b) 5,84, im suspendierten Niederschlag c) 5,18.

Die einzelnen Proben werden mit je 5 ccm Maltoselösung (10%) versetzt. Umsatz in Kubikzentimeter Permanganat nach $^3/_4$ Stunden in der Kontrollösung 1,7 ccm, in b) und c) 0 ccm.

2. 3 ccm n-Natriumacetat, 9 ccm n-Essigsäure, 9 ccm Wasser und 3 ccm Fermentlösung werden vermischt. Nach dem Zentrifugieren wird der Niederschlag zunächst mit sekundärem Phosphat neutralisiert, dann Niederschlag a) sowohl als die abgehobene Flüssigkeit b) auf die optimale Reaktion gebracht und wie oben mit Maltose versetzt. p_H in a) 6,42, in b) 6,46. p_H in der Kontrollösung 6,90.

Permanganatverbrauch in der Kontrollösung nach 1 Stunde (bei 38°) 2,47 ccm; in a) nach 1 Stunde 0,2 ccm, nach 2 Stunden 1,0 ccm; in b) nach 2 Stunden 0 ccm.

3. 3 ccm Maltase, 9 ccm Wasser, 3 ccm n-Natriumacetat, 9 ccm n-Essigsäure werden vermischt. Der wie oben gewonnene Niederschlag a) wird mit Natronlauge vorsichtig auf ca. $10^{-5,5}$ gebracht, wobei klare Lösung eintritt; dann wird die Lösung mit primärem Phosphat auf ca. $10^{-6,8}$ gebracht (wieder leichte Flockung) und auf 50 ccm aufgefüllt. Die abgehobene Flüssigkeit b) wird ebenfalls mit Phosphat neutralisiert und auf 50 ccm aufgefüllt. Schließliche Reaktion (p_H) in a) 6,77, in b) 6,56; in der Kontrollösung 6,11. Zu je 50 ccm Lösung werden 5 ccm 15%ige Maltoselösung zugefügt.

Permanganatverbrauch nach 1 Stunde (38°) in der Kontrollösung 3,0 ccm, in a) 0,2 ccm, in b) 0 ccm.

Man kann hieraus mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit schließen, daß der Niederschlag das Ferment enthält, ja vielleicht selbst darstellt, daß aber seine Ausfällung mit einer irreversiblen inneren Veränderung verbunden ist. Das erkennt man auch daraus, daß eine Lösung von der p_H des ursprünglichen, klaren Hefenauszuges (p_H = ca. 6,3) den Niederschlag absolut nicht wieder in Lösung bringt, sondern erst eine viel alkalischere Reaktion (p_H = ca. 8 bis 9).

Schließlich sei erwähnt, daß Maltase von Kaolin sehr merklich adsorbiert wird; auch in diesem Punkte verhält sich demnach dieses Ferment anders wie die Invertase, die von Kaolin kaum adsorbiert wird.

1. 2 ccm Ferment, 2 ccm n-Natriumacetat, 6 ccm Wasser, 10 ccm 2%ige Maltose werden zusammengemischt. Eine Probe wird sofort auf ihre Wirksamkeit geprüft, eine andere, nachdem sie mit ca. 2 g Kaolin

geschüttelt und dann abfiltriert worden ist. Verbrauchtes Permanganat nach $1^1/_2$ Stunde (bei 38°) in der ersten Probe 3,0 ccm, in der zweiten 1,68 ccm.

2. 20 ccm 2%ige Maltoselösung werden mit 6 ccm halbverdünnter Fermentlösung versetzt, welche vorher mit etwa 5 g Kaolin geschüttelt und dann abfiltriert wurde. Nach 1 Stunde (bei 38°) ist eine nachweisbare Spaltung der Maltose nicht vorhanden.

Schlußfolgerungen.

Fassen wir alle diese Resultate zusammen, so ergibt sich folgendes Bild von der Maltase: Die Maltase ist nur in Form ihrer Anionen wirksam und haltbar. Überschuß von Alkali zerstört das Ferment, wohl unter Bildung labiler zweiwertiger Anionen; stärkere Ansäuerung zerstört das Ferment unter gleichzeitiger Ausfällung eines nucleoproteidartigen Körpers. Das Fällungsoptimum, das den isoelektrischen Punkt des Nucleoproteids darstellt, dürfte mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auch der isoelektrische Punkt des Ferments sein. Das Wirkungsoptimum der Maltase entspricht $p_H = 6{,}1$ bis 6,8, also einer gerade eben sauren Reaktion, ganz verschieden von der der Invertase; das Optimum der letzteren (4,5) stellt für die Maltase schon eine Reaktion völliger Unwirksamkeit und Zerstörung des Ferments dar; ein weiterer fundamentaler Unterschied gegen Invertase ist, daß von der Maltase nur die Anionen, von der Invertase nur die unelektrischen Moleküle wirksam sind; daß die Invertase bei jeder [H˙] glatt löslich ist, die Maltase in ihrem isoelektrischen Punkt gefällt wird; daß Invertase von Kaolin so gut wie gar nicht, Maltase ziemlich bedeutend adsorbiert wird.

Beitrag zur Kenntnis des Erepsins.

Von

P. Rona und F. Arnheim.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 9. Oktober 1913.)

Mit 11 Figuren im Text.

Trotz der zahlreichen Untersuchungen über das Vorkommen und die Wirkungsweise des Erepsins sind wir über seine optimalen Wirkungsbedingungen nur ungenügend unterrichtet. Vernon[1]) beobachtete eine Beschleunigung der Erepsinwirkung bei 0,4 bis 1,2 %igen Na_2CO_3-Lösungen. Euler[2]) gibt an, daß das Optimum der Wirkung des Erepsins auf Glycylglycin bei einer OH'-Ionenkonzentration von 0,000 012 n liegt, was einer H-Ionenkonzentration von ca. $2 \cdot 10^{-9}$ entsprechen würde. Bei diesen Untersuchungen war jedoch die Reaktion des Mediums nicht direkt bestimmt, sondern nur berechnet worden. Abgesehen davon, daß eine genaue Berechnung der in der Lösung tatsächlich vorhandenen H'- resp. OH'-Konzentration kaum durchführbar ist, ist es fraglich, ob die Regulationsmechanismen in diesen Versuchen ausgereicht haben, während des ganzen Verlaufs der fermentativen Spaltung die Reaktion konstant zu erhalten.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir uns die Aufgabe, die optimale H'-Ionenkonzentration für die Wirkung des Erepsins bei der Spaltung von Witte-Pepton festzustellen und nachzusehen, wie weit diese mit der Reaktion des Darmsaftes übereinstimmt. Ferner war es noch von Interesse, ob sich das Optimum des Erepsins von dem des Trypsins in nennenswerter Weise unterscheidet.

---

[1]) Vernon, Journ. of Physiol. **30**, 330, 1903.
[2]) Euler, Zeitschr. f. Physiol. **51**, 213, 1907.

Als Fermentlösung benutzten wir Glycerinextrakte der sorgfältig gereinigten und abgeschabten Darmschleimhaut von Hunden, ferner Glycerinextrakte aus zerkleinerten Hundenieren, nach der Vorschrift von Vernon bereitet. Als Substrat für die Fermentwirkung diente eine 4%ige Witte-Peptonlösung, die für jeden Versuch frisch bereitet und vor der Benutzung filtriert wurde. Um die Reaktion während des Verlaufs der fermentativen Hydrolyse (die auf höchstens 3 Stunden ausgedehnt wurde) konstant zu halten, wurden relativ große Mengen von dem Regulatorgemisch angewendet. Als solches benutzten wir Natriumacetat, dem wir wechselnde Mengen Essigsäure bzw. Soda zusetzten, wodurch die gewünschte Abstufung der Reaktion nach der sauren wie nach der alkalischen Richtung erreicht werden konnte. Auf diese Weise wurde die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration der Lösung in einer Versuchsreihe beliebig variiert, ohne die Konzentration der anderen Ionenarten nennenswert zu ändern. In einigen Versuchen wurden auch Phosphatgemische angewendet. Soweit es sich bis jetzt beurteilen läßt, sind sicher nachweisbare Unterschiede in der Wirkung dieser verschiedenen Regulatoren nicht zu konstatieren. Dieser Punkt erfordert jedoch, wie auch die Frage der Salzwirkung überhaupt, beim Erepsin noch eine eingehende Untersuchung.

Zur quantitativen Feststellung der Peptonspaltung benutzten wir, wie Michaelis und Davidsohn[1]) bei ihren Untersuchungen über das Trypsin, die Formolmethode von Sörensen. Kann die Schärfe der Bestimmung sich auch nicht etwa mit der der polarimetrischen Feststellung der Zuckerinversion messen, so gibt sie doch bei gleichmäßigem Arbeiten bis auf 0,05 bis 0,1 ccm gut reproduzierbare Werte. Da der Gesamtumsatz durchschnittlich 2 bis 3 ccm betrug, so kann die Genauigkeit dieser äußerst bequemen Methode als eine für den vorliegenden Fall genügende betrachtet werden. Zur Unterbrechung der Hydrolyse wurden die von Zeit zu Zeit aus dem Reaktionsgemisch entnommenen Proben (je 10 ccm) in 10 ccm einer 40%igen Formollösung zugesetzt. Titriert wurde mit 0,1 n-NaOH mit Phenolphthalein als Indicator bis zur deutlichen Rosafärbung.

[1]) Diese Zeitschr. 36, 280, 1911.

Tabelle I.

Vers.-Nr.	Regulatorgemisch	[H] gemessen	p_H	Zeit Min.	0,1 n-NaOH-Umsatz
I 1	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ n-Natriumcarbonat	$4{,}1 \cdot 10^{-8}$	7,39	60 120 205	2,42 3,40 4,32
2	4,0 ccm n Natriumacetat 0,3 „ n-Natriumcarbonat	$6{,}8 \cdot 10^{-8}$	7,17	60 120 205	2,18 3,13 4,23
3	4,0 ccm n-Natriumacetat	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$	6,81	60 120 205	1,70 2,55 3,35
4	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ n-Essigsäure	$2{,}9 \cdot 10^{-6}$	5,53	60 120 205	0,80 1,30 1,82
5	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,0 „ n-Essigsäure	$6{,}9 \cdot 10^{-6}$	5,16	120 205	0,77 1,32
6	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$4{,}0 \cdot 10^{-7}$	6,40	60 120	1,30 2,10
II 7	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,7 „ n-Natriumcarbonat	$2{,}0 \cdot 10^{-8}$	7,70	60 120 180	1,65 2,60 3,50
8	4,0 ccm n Natriumacetat 0,05 „ n-Natriumcarbonat	$7{,}8 \cdot 10^{-8}$	7,11	60 120 180	1,48 2,33 2,88
9	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$2{,}1 \cdot 10^{-7}$	6,67	60 120 180	1,20 1,85 2,52
10	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,6 „ n-Essigsäure	$8{,}1 \cdot 10^{-7}$	6,09	60 120 180	0,95 1,50 2,00
11	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ n-Essigsäure	$1{,}7 \cdot 10^{-6}$	5,68	120 180	1,00 1,60
12	4,0 ccm n-Natriumacetat 3,0 „ n-Essigsäure	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$	4,96	120 180	0,75 1,10
III 13	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,7 „ n-Natriumcarbonat	$2{,}6 \cdot 10^{-8}$	7,59	50 105 165	1,70 2,56 3,50
14	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$3{,}6 \cdot 10^{-7}$	6,44	105 165	2,15 2,85
15	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,1 „ n-Essigsäure	$2{,}3 \cdot 10^{-7}$	6,63	105 165	2,15 2,80
16	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ n-Essigsäure	$1{,}1 \cdot 10^{-6}$	5,96	60 105 165	1,08 1,80 2,40

Tabelle I (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Regulatorgemisch	[H] gemessen	p_H gemessen	Zeit Min.	0,1 n-NaOH-Umsatz
17	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,5 ccm n-Essigsäure	$9{,}1 \cdot 10^{-6}$	5,04	50 105 165	0,60 0,95 1,15
IV 18	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,9 „ n-Natriumcarbonat	$1{,}7 \cdot 10^{-8}$	7,77	60 180	1,93 3,13
19	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,7 „ n-Natriumcarbonat	$2{,}6 \cdot 10^{-8}$	7,59	60 120 180	1,73 2,63 3,20
20	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ n-Natriumcarbonat	$3{,}8 \cdot 10^{-8}$	7,42	60 120 180	1,67 2,52 3,10
21	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$	6,37	60 120 190	1,00 1,65 2,15
22	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ n-Essigsäure	$1{,}1 \cdot 10^{-6}$	5,95	60 120 190	0,92 1,65 2,00
23	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,5 „ n-Essigsäure	$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	4,99	60 120 190	0,40 0,70 0,95
V 24	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,7 „ n-Natriumcarbonat	$2{,}1 \cdot 10^{-8}$	7,67	45 110 155	1,30 2,55 3,15
25	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ n-Natriumcarbonat	$3{,}2 \cdot 10^{-8}$	7,50	45 110	1,25 2,40
26	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,1 „ n-Natriumcarbonat	$8{,}0 \cdot 10^{-8}$	7,10	45 100 155	1,12 2,02 2,72
27	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,2 „ n-Essigsäure	$2{,}2 \cdot 10^{-7}$	6,66	45 110 155	0,93 1,88 2,38
28	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,6 „ n-Essigsäure	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	6,00	45 110 155	0,81 1,56 2,06
29	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ n-Essigsäure	$2{,}6 \cdot 10^{-6}$	5,59	45 110 155	0,70 1,20 1,45
VI 30	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ 0,1 n-NaOH	$4{,}3 \cdot 10^{-8}$	7,36	60 85 150	0,65 1,00 1,40
31	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,5 „ 0,1 n-NaOH	$8{,}4 \cdot 10^{-8}$	7,08	60 85 150	0,70 0,95 1,33

Tabelle I (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Regulatorgemisch	[H] gemessen	p_H gemessen	Zeit Min.	0,1 n-NaOH-Umsatz
32	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,0 „ n-Natriumcarbonat	$1{,}4 \cdot 10^{-9}$	8,85	60 85 150	0,45 0,68 1,10
33	4,0 ccm n-Natriumacetat 2,0 „ n-Natriumcarbonat	$3{,}3 \cdot 10^{-10}$	9,49	85 150	0,43 0,90
VII 34	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,3 „ n-Natriumcarbonat	$2{,}2 \cdot 10^{-8}$	7,66	50 110 170	0,62 0,92 1,12
35	10,0 ccm $^n/_3$ sek.-Phosphat 3,5 „ 0,1 n-NaOH	$3{,}3 \cdot 10^{-9}$	8,48	50 110	0,41 0,78
36	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,5 „ n-Natriumcarbonat	$8{,}0 \cdot 10^{-10}$	9,10	50 110 170	0,35 0,60 0,75
VIII 37	4,0 ccm n-Natriumacetat 0,3 „ n-Natriumcarbonat	$1{,}9 \cdot 10^{-8}$	7,73	60 120 180	0,88 1,28 1,58
38	10,0 ccm $^n/_3$ sek.-Phosphat 3,0 „ 0,1 n-NaOH	$5{,}4 \cdot 10^{-9}$	8,27	60 120 180	0,75 1,10 1,48
39	4,0 ccm n-Natriumacetat 1,5 „ n-Natriumcarbonat	$1{,}2 \cdot 10^{-9}$	8,92	60 120 180	0,40 0,75 1,05

Auf diese Weise wurde in einer großen Zahl von Versuchsreihen die Wirkung der H'-Ionenkonzentration auf den fermentativen Umsatz untersucht. Da diese alle in gleichem Sinn verliefen, sollen nur einige davon mitgeteilt werden. Jede Probe enthielt 30 ccm Witte-Peptonlösung und 7 ccm Fermentlösung; das Gesamtvolumen des Gemisches betrug 50 ccm. Sämtliche Flüssigkeiten befanden sich in einem Ostwaldschen Wasserbade von der Temperatur $38^0 \pm 0{,}05$. Die Zusammensetzung der Regulatoren ist in den Tabellen angegeben.

Zur besseren Übersicht geben wir die Versuche auch graphisch wieder, wobei die Zeit als Abszisse, die Umsätze in Kubikzentimetern NaOH als Ordinate aufgetragen werden.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß das Optimum der Erepsinwirkung bei einer H'-Ionenkonzentration von ca. $2 \cdot 10^{-8}$ liegt.

Unter Heranziehung der von L. Michaelis entwickelten Anschauung müssen wir annehmen, daß bei einer nicht optimalen H'-Ionenkonzentration nur ein Teil des Fermentes seine Wirksamkeit entfaltet. Es läßt sich nun — wie das bereits bei verschiedenen Fermenten durchgeführt wurde[1]) — die

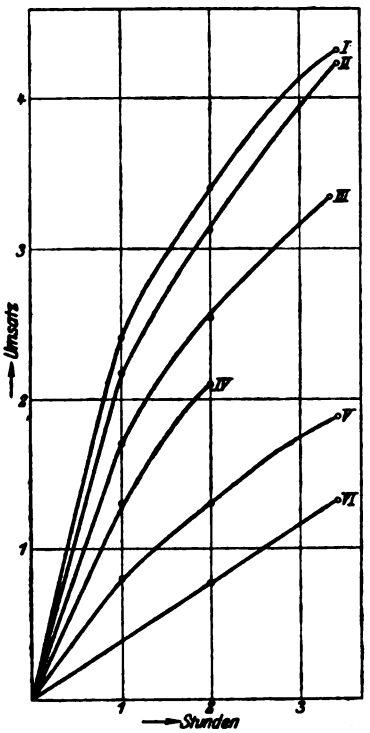


Fig. 1.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}39$	$IV = 6{,}40$
$II = 7{,}17$	$V = 5{,}53$
$III = 6{,}81$	$VI = 5{,}16$

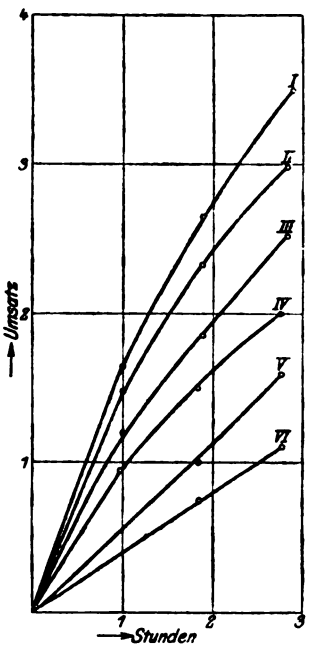


Fig. 2.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}70$	$IV = 6{,}09$
$II = 7{,}11$	$V = 5{,}68$
$III = 6{,}67$	$VI = 4{,}96$

Größe dieses wirksamen Teiles bei einer beliebigen H'-Ionenkonzentration quantitativ feststellen, wenn gleiche Umsätze den entsprechenden Zeiten umgekehrt proportional gesetzt werden. Dazu ist man berechtigt, wenn bei gleichem H'-Ionen- und

[1]) Michaelis und Davidsohn, diese Zeitschr. **35**, 386, 1911; **36**, 280, 1911.

wechselndem Fermentgehalt die Zeiten gleichen Umsatzes sich umgekehrt wie die Fermentmengen verhalten.

Dies ist, wie die nachfolgende Versuchsreihe zeigt, der Fall[1]). Die Anordnung dieser Versuche war so, daß in einer Reihe verschiedene Fermentmengen bei derselben (oder ganz nahe

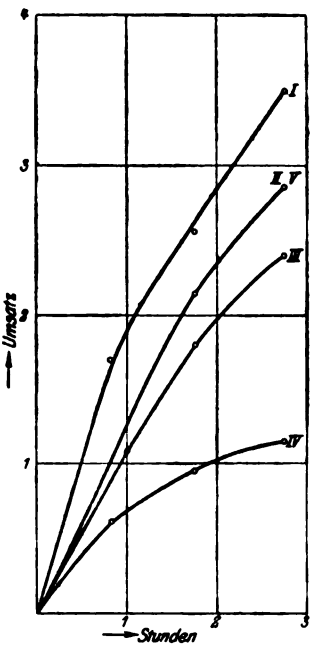


Fig. 3.
Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 7{,}59$ $III = 5{,}96$
$II = 6{,}44$ $IV = 5{,}04$
$V = 6{,}63$

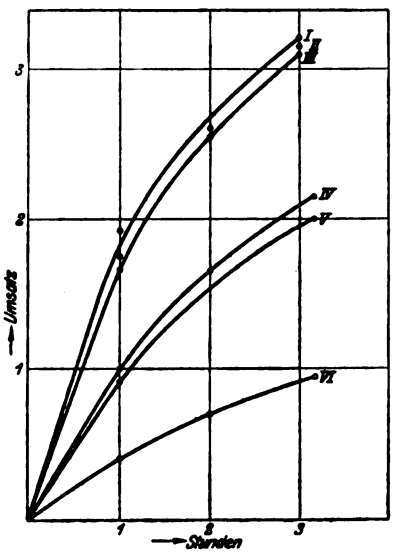


Fig. 4.
Elektrometrisch gemessener p_H für
$I = 7{,}77$ $IV = 6{,}37$
$II = 7{,}59$ $V = 5{,}95$
$III = 7{,}42$ $VI = 4{,}99$

liegenden) H'-Ionenkonzentration, die dem Wirkungsoptimum des Fermentes entsprach, auf dieselbe Substratmenge gewirkt haben. — Die Werte für p_H waren in den 3 Versuchen bzw. 7,75, 7,81, 7,78. Die Fermentmengen verhielten sich in A, B, C wie 6:3:2.

---

[1]) Vgl. auch Vernon, Journ. of Physiol. 30, 334, 1904; Euler, Allg. Chemie der Enzyme. S. 136.

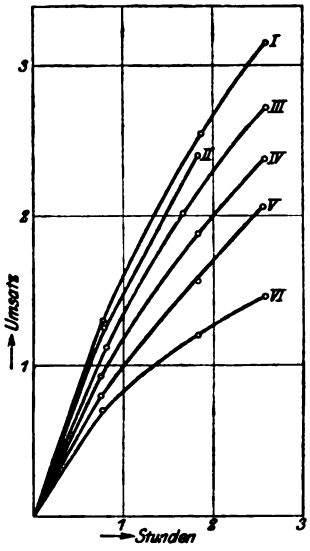


Fig. 5.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}67$	$IV = 6{,}66$
$II = 7{,}50$	$V = 6{,}00$
$III = 7{,}10$	$VI = 5{,}59$

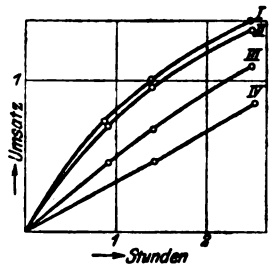


Fig. 6.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}36$	$III = 8{,}85$
$II = 7{,}08$	$IV = 9{,}49$

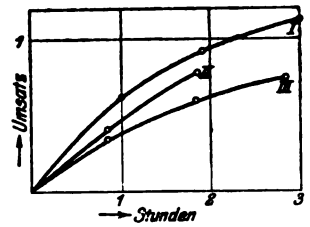


Fig. 7.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}66$ $II = 8{,}48$

$III = 9{,}10$

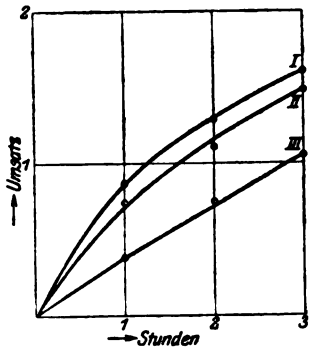


Fig. 8.

Elektrometrisch gemessener p_H für

$I = 7{,}73$ $II = 8{,}27$

$III = 8{,}92$

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in der Tabelle II und graphisch in der Fig. 9 wiedergegeben.

Trägt man das Produkt Ferment $\times$ Zeit als Ordinate, den Umsatz als Abszisse auf, so liegen alle die experimentell ermittelten Punkte auf einer Linie (vgl. Fig. 10).

Berechnen wir nun aus den einzelnen Versuchen die relativen Umsatzgeschwindigkeiten bei den verschiedenen $H^{\cdot}$-Ionenkonzentrationen und tragen die Werte als Funktion

Tabelle II.

Ferment-lösung	Zeit Minuten	Umsatz: 0,1 n-NaOH ccm	Zeit × Ferment-menge
A	30	0,53	180
	60	0,83	360
	120	1,11	720
B	60	0,48	180
	120	0,80	360
	240	1,14	720
C	90	0,55	180
	180	0,80	360
	240	0,90	480

von p_H in einem Koordinatensystem als Ordinate ein, so erhalten wir die in der Fig. 11 eingezeichneten Punkte. Betrachtet man nun die H-Ionenkonzentration bei halber Ordinatenhöhe, d. i. $p_H = 5{,}9$, $[H] = 1{,}2 \cdot 10^{-6}$ als Dissoziationskonstante, so stellt die ausgezogene Linie der Figur die Dissoziationskurve einer Säure mit dieser Dissoziationskonstante dar. Wie man sieht, ist die Übereinstimmung der theoretisch gezeichneten Linie mit den experimentell ermittelten Punkten eine ziemlich befriedigende. Nur bei stärker saurer Reaktion, von etwa 10^{-5} an, wird die Übereinstimmung der Beobachtung und der Theorie weniger gut infolge des beginnenden spontanen Umsatzes und der äußerst geringen Umsätze, bei denen die methodischen Fehler schon bedeutend werden.

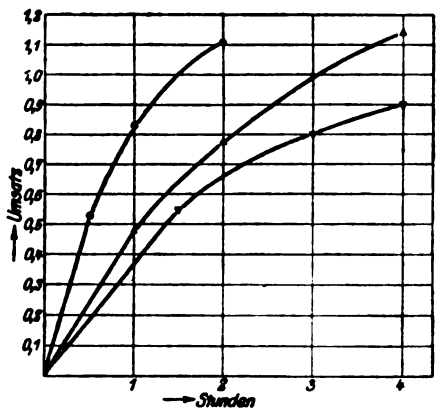


Fig. 9.

Aus der Figur ist ersichtlich, daß das Erepsin bei ca. $[H] = 2 \cdot 10^{-8}$ das Optimum seiner Wirksamkeit hat, bei etwa 10^{-4} völlig unwirksam ist, und bei $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ seine halbe Wirksamkeit entfaltet.

Im Gebiete des Optimums ist das Erepsin als Anion vorhanden. Dies zeigen die folgenden Überführungsversuche. — Die Versuche waren so angeordnet, daß die Fermentlösung mit Phosphatgemisch (Versuch 1 und 2) oder mit Acetat-Soda-

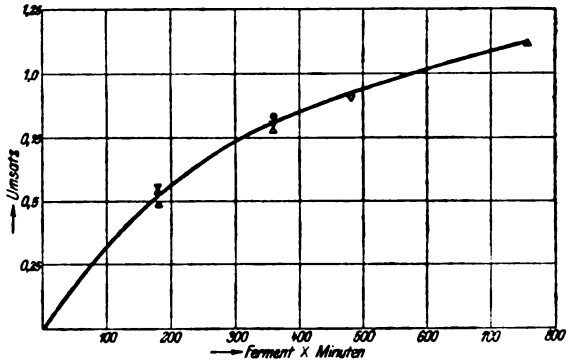


Fig. 10.

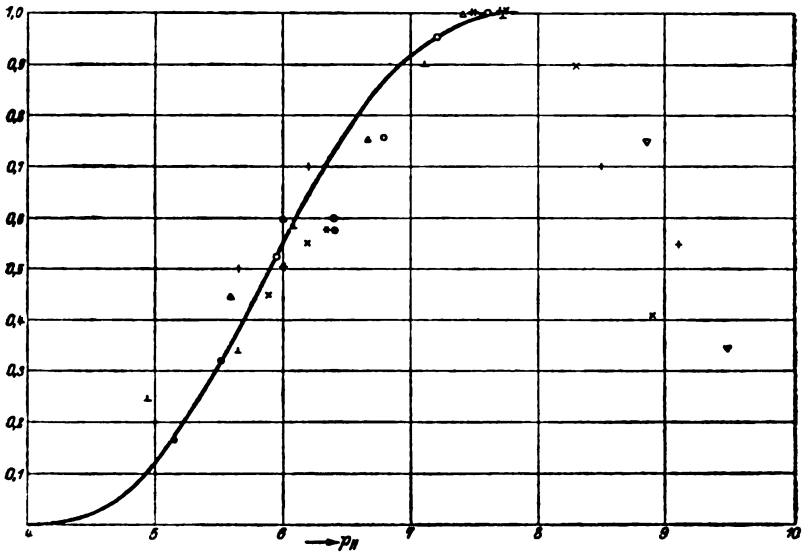


Fig. 11.

gemischen (Versuch 3 und 4) auf die optimale Reaktion (p_H gemessen = 7,4) gebracht wurde. Die Elektrolytkonzentration war in bezug auf Phosphat $^n/_{80}$, auf Acetat $^n/_{12}$. Als Seitenflüssigkeit diente dieselbe, aber aufgekochte und filtrierte Fermentlösung.

Versuch 1: Stromdurchgang 6 Stunden. Nach Abschluß der Wanderung wurde sowohl die anodische wie die kathodische Flüssigkeit (je 7 ccm) mit 30 ccm einer $1\,^0/_0$igen Witte-Peptonlösung versetzt und die Spaltung nach 24 Stunden mittels der Formolmethode festgesetzt. Umsatz bei der anodischen Fermentlösung 0,52 ccm 0,1 n-NaOH, bei der kathodischen 0 ccm.

Versuch 2: Stromdurchgang 6 Stunden. Anordnung wie im Versuch 1. Umsatz bei der anodischen Flüssigkeit 0,46 ccm 0,1 n-NaOH, bei der kathodischen 0 ccm.

Versuch 3: Stromdurchgang $6\,^1/_2$ Stunden. Anordnung wie im Versuch 1. Umsatz bei der anodischen Flüssigkeit 0,55 ccm 0,1 n-NaOH, bei der kathodischen 0 ccm.

Versuch 4: Stromdurchgang $6\,^1/_2$ Stunden. Anordnung wie im Versuch 1. Umsatz bei der anodischen Flüssigkeit 0,48 ccm 0,1 n-NaOH, bei der kathodischen 0 ccm.

Hieraus können wir schließen, daß beim Erepsin, ebenso wie beim Trypsin, die Anionen wirksam sind und die Kurve in Fig. 11 den Dissoziationsgrad in bezug auf die Anionen darstellt.

Bei weiterer Zunahme der Alkalität wird die Wirksamkeit wieder geringer. Zum Teil offenbar infolge der Zerstörung des Fermentes, die bei stärker alkalischer Reaktion eintritt[1]). Dazu kommt noch bei höherer Alkalität — worauf Michaelis beim Trypsin hingewiesen hat — möglicherweise auch die Bildung proteolytisch unwirksamer doppelt geladener Erepsin-Anionen.

Zusammenfassend können wir demnach sagen, daß das Erepsin in seinen Wirkungsbedingungen sich dem Trypsin ähnlich verhält. Wie beim Trypsin, so sind beim Erepsin die Anionen die proteolytich wirksamen Teile. Das Optimum liegt ca. bei $[H] = 2 \cdot 10^{-8}$; die Säuredissoziationskonstante beträgt $1{,}2 \cdot 10^{-6}$. — Es besteht also bezüglich dieser Konstanten eine geringe, aber sicher nachweisbare Differenz gegenüber dem Trypsin. — Wir finden ferner, daß die optimale Reaktion der Erepsinwirkung mit der H'-Ionenkonzentration des Darmsaftes bei Hunden ($[H] = 0{,}2$ bis $5 \cdot 10^{-8}$), wie sie Auerbach und Pick[2]) elektrometrisch bestimmt haben, gut übereinstimmt.

[1]) Vgl. hierzu Vernon, l. c.

[2]) Auerbach und Pick, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte **43**, 155, 1912.

Photochemische Vorgänge bei der diurnalen Entsäuerung der Succulenten.

Von

H. A. Spoehr.

(Aus dem Carnegie Institution of Washington, Desert Laboratory, Tucson, Arizona, U. S. A.)

(Eingegangen am 24. September 1913.)

Das Phänomen nächtlicher Ansäuerung und täglicher Entsäuerung fleischiger Gewächse ist meines Wissens nach zuerst von Benjamin Heyne[1]) untersucht worden. Seitdem ist von verschiedenen Forschern das Tatsachenmaterial bedeutend vergrößert worden. Es hat sich dabei allgemein herausgestellt, daß nachts die Succulenten an organischen Säuren bedeutend zunehmen und daß diese Acidität am Tageslicht vermindert wird und bis zum Abend ganz verschwunden ist. Hand in Hand mit dem Verschwinden der Säure nimmt die Pflanze an Zucker zu. Diese Befunde sind zum Teil zur Erklärung einiger der wichtigsten physiologischen Vorgänge der Pflanze herangezogen worden.

Bekanntlich stützte Liebig[2]) seine Theorie der Kohlenstoffassimilation zum Teil auf das Verschwinden der Säure in reifenden Früchten und die gleichzeitige Zunahme des Zuckers in denselben. Die Säuren bildeten also die Mittelstufe zwischen Kohlensäure und den Kohlenhydraten; in erster Linie kam die sehr verbreitete Oxalsäure als erstes Assimilationsprodukt in Betracht. Seitens der Pomologen und Onologen fand nun diese Theorie eine Zeitlang großen Beifall, und wegen der Ähnlichkeit der Vorgänge in den Succulenten versuchten verschiedene Forscher, die hier beobachteten Schwankungen der Säure als einen mit der

---

[1]) Trans. Linnean Soc. 9, 213, 1819. Vgl. Jahrb. f. Gewächskunde 1, 70, 1820; de Saussure, Annal. chim. phys. 19, 129.

[2]) Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. 8. Aufl. S. 51 und 77.

Zuckersynthese intim verbundenen Vorgang zu erklären. Ad. Mayer[1]) untersuchte das Phänomen an verschiedenen säurereichen Pflanzenarten viz. Bryophyllum, Crassula, sowie Oxalisarten und Weinranken. Er fand, daß die Succulenten bei Abwesenheit von Kohlensäure im Sonnenlicht Sauerstoff ausscheiden, und daß gleichzeitig eine Vermehrung der Stärke stattfindet, woraus er folgerte, daß die Kohlenhydrate Endprodukte dieses Reduktions- und Entsäuerungsprozesses seien. Spätere Arbeiten bestätigten diese Befunde von Mayer; er bestimmte die Säure als Äpfelsäure oder Isoäpfelsäure und brachte den Nachweis, daß sich aus der Säure im Lichte erst Kohlensäure abspaltet. Schließlich kamen für Mayer als endgültiges Moment für die Annahme der Kohlenhydrate als Endprodukt der Entsäuerungsprozesse einige quantitative Versuche, die zeigen, daß die Menge der Sauerstoffausscheidung mit der Berechnung der Reduktion der im Lichte verschwundenen Säure zu Kohlenhydraten übereinstimmt, und daß nach der Entsäuerung im kohlensäurefreien Raum mehr Zucker, Stärke und Dextrin vorhanden sind.

Für die Frage, ob die Säurezersetzung tatsächlich mit der Kohlenstoffsynthese in direktem Zusammenhang steht, waren nun die Untersuchungen von Kraus, De Vries, Warburg, Purjewiecz und Gerber entscheidend. Aus den sehr umfangreichen und mannigfaltigen pomologischen und onologischen Arbeiten[2]) über Reifung der Früchte hat es sich inzwischen als wichtigste Tatsache für die physiologische Bedeutung der organischen Säuren herausgestellt, daß die Säure wirklich verschwindet (nicht durch anorganische Basen gebunden wird) und daß diese nur einen sehr kleinen Teil der Zuckervermehrung decken könnte.

Im wesentlichen ergaben die Arbeiten von Kraus[3]), daß die periodischen Schwankungen der Säure eine allgemeine Regel bei Pflanzenblättern ist (nicht nur Fettpflanzen), daß die Entsäuerung direkt durch das Licht hervorgerufen wird und weder mit der Atmung noch der Chlorophyllfunktion im Zusammenhang steht. Die Säuren seien Nebenprodukte der Atmung.

De Vries[4]) sah die Entsäuerung primär als eine Oxydation an, die durch das Licht „induziert" wird, aber nicht abhängig davon ist, sondern auch durch dauernde Dunkelheit veranlaßt wird. Ansäuerung und Entsäuerung sind stets nebeneinander verlaufende Vorgänge, und die in irgendeinem Augenblick vorhandene Säuremenge ist die Differenz zwischen den jeweilig herrschenden entgegengesetzten Vorgängen.

---

[1]) Landw. Versuchsstat. **18**, 428, 1875; **21**, 277, 1878; **30**, 217, 1884; **34**, 127, 1887.

[2]) Pollaci, Biochem. Centralbl. 1878, 772. — Portele, ebenda 1879. — Schwartz, Annal. Chem. Pharm. **33**, 884. — H. Müller-Thurgau, Ber. d. Weinbaukongr. in Dürkh. 1882.

[3]) Die Wasserverteilung in der Pflanze. 4. Abh. der Natuforsch.-Ges. Halle **16**, 143, 1883.

[4]) Botan. Zeitg. **42**, 336, 1884.

Aus der sehr umfangreichen und gründlichen Arbeit von Warburg[1]) über die physiologische Bedeutung der Säuren in Bryophyllum ergeben sich als für uns wichtigste Ergebnisse im wesentlichen, daß die Säuren Produkte unvollständiger Oxydation des im Atmungsprozeß verarbeiteten Zuckers sind, und daß die Entsäuerung an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden ist, also von allen lebens- und atmungsprozeßsteigernden Agenzien befördert wird (also auch Licht und Wärme).

Der gegenwärtige Stand der Frage läßt sich nun dahin zusammenfassen[2]): die Ansäuerung der Succulenten (oder irgendeines Pflanzenteils) ist das Resultat erschwerten Sauerstoffzutrittes, unvollständiger Veratmung von Zucker. Im Lichte verschwindet nun die angehäufte Säure, teils wegen der durch die Reduktion von Kohlensäure verbesserten Sauerstoffversorgung, teils wegen einer direkten photochemischen Spaltung der Säure.

Als Ergänzung und Vervollständigung der obengenannten Untersuchungen sei noch die Arbeit von Purjewiecz[3]) erwähnt. Er fand, daß die Entsäuerung auch in chlorophyllfreien Pflanzenteilen im Lichte stattfindet. Der Zerfall ist anfangs bedeutend, dann sukzessiv abnehmend; im Verlaufe der Verminderung der Gesamtacidität steigt der Gehalt der flüchtigen Säuren. Purjewiecz vermutet, daß bei dem im Lichte stattfindenden Zerfall der Säuren Material zur Bildung von Kohlenhydraten gebildet wird.

Die Prozesse der Säurebildung und darauf folgende Schwindung derselben sind nun keineswegs auf die Succulenten beschränkt. Im Gegenteil, wie schon Kraus an einer ganzen Reihe von Pflanzen feststellte, ist dies ein normaler, bei jeder aeroben Zuckerveratmung im Pflanzenblatt stattfindender Vorgang. Für die Anhäufung der Säuren sind natürlich die fleischigen Pflanzenteile besonders geeignet, da hier der Gasaustausch mit der umgebenden Atmosphäre bedeutend erschwert ist und im betreffenden Teil bald Sauerstoffmangel herrscht. Aus diesem Phänomen ist man also nicht berechtigt, auf einen anderen Verlauf der Atmungsprozesse zu schließen. Gewisse organische Säuren sind charakteristisch für manche Pflanzenblätter, nicht weil hier besondere chemisch-physiologische Vorgänge herrschen, sondern weil der morphologische Bau zur Anhäufung dieser im Verlaufe der Atmung gebildeten Substanzen günstig ist.

---

[1]) Untersuch. aus dem botan. Inst. Tübingen 2, 53, 1886.

[2]) Vgl. auch Gerber, Inaug.-Diss. Paris 1897; Annal. Sc. nat. Botan. 4, 153, 1896.

[3]) Botan. Centralbl. 58, 368, 1894.

Es fragt sich nun, was sind die Produkte der photochemischen Spaltung der Pflanzensäuren? Sind hier möglicherweise die Bausteine eines „sekundären" Aufbaues von Zucker gegeben? Hat doch Treboux[1]) nachgewiesen, daß verschiedene grüne Algen und Moose nicht nur gut gedeihen, sondern auch Stärke produzieren, wenn diesen organische Säuren als einzige Kohlenstoffquelle geboten wird. Haben wir es hier mit Substanzen zu tun, deren Vorkommen in der Pflanze bis jetzt auch richtig gedeutet wurde?

Obgleich die Liebigsche Theorie fast allgemein als nicht zutreffend aufgegeben wurde, hat sie doch von Zeit zu Zeit von verschiedenen Seiten Unterstützung genossen. Ballo[2]), der aus Ameisensäure Oxalsäure mittels Salpetersäure erhielt, gibt als Möglichkeit an, die aufeinander folgende Reduktion von Oxalsäure → Tartronsäure → Weinsäure → Aposorbinsäure → Zuckersäure usw. Eine ähnliche Bildung von kohlenstoffreicheren Säuren aus den einfacheren in bezug auf die Pflanze ist auch von Brunner und Chuard[3]) und von Königs[4]) angegeben. Traube[5]) unterstützt diese letzten Ansichten, indem er die Glykolsäure, Glyoxylsäure, Äpfelsäure usw. in „einfache genetische Beziehung zur Oxalsäure und damit zur Kohlensäure" bringt durch seine Reduktion der Oxalester. Vor kurzem hat auch Baur[6]) die Liebigsche Hypothese wieder aufgenommen und auf Grund energetischer Berechnungen die Möglichkeit einer primären Reduktion von Kohlensäure zu Oxalsäure erörtert.

Die Säuren der Succulenten[7]).

Die Äpfelsäure ist wohl nach der Oxalsäure die häufigste aller im Pflanzenreiche gefundenen Säuren. Die Oxalsäure nimmt hauptsächlich deswegen die erste Stelle ein, weil sie durch das sehr charakteristische Calciumsalz leicht identifiziert

[1]) Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **23**, 432, 1905. Vgl. auch H. Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis Klebs. Jahrb. f. wiss. Botan. **34**, 149, 1899.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **17**, 10, 1884.

[3]) Ebenda **19**, 595, 1886.

[4]) Ebenda **25**, 800, 1892.

[5]) Ebenda **40**, 4947, 1907.

[6]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **63**, 683, 1908. — Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **46**, 852, 1913.

[7]) Die Möglichkeit, daß in der Äpfelsäure der Succulenten eine vierte stereoisomere Modifikation dieser Säure vorliegt, würde auf die hier gefundenen Resultate keinen Einfluß haben. Vgl. Aberson, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 1432, 1898. — Walden, ebenda **32**, 2706, 2849, 1899. — Werner, Lehrbuch der Stereochemie. Jena 1904. S. 16.

ist. Schon Mayer stellte fest, daß die Säure der Crasulaceen Äpfelsäure ist, und seitdem wurde dies für die meisten Succulenten bestätigt[1]). Ich habe in einer großen Zahl von Cactusarten neben der stets vorhandenen Oxalsäure die Äpfelsäure mikro-chemisch nachweisen können. Auch auf analytischem Wege wurde die Gegenwart von Äpfelsäure für verschiedene Cactusarten festgestellt. So z. B. für Opuntia versicolor: der ausgepreßte Saft wurde mit überschüssigem gepulvertem Calciumcarbonat versetzt, rasch zum Sieden erwärmt und dann bei Zimmertemperatur stehen gelassen bis das Gemisch neutral war, dann filtriert. Der Rückstand enthielt etwas Calciumoxalat; nach dem Einengen krystallisierte aus dem Filtrat Calciumoxalat; nach zweimaligem Umkrystallisieren ergab die Analyse: 0,4880 g wasserfreies Salz gab beim Glühen 0,1585 g CaO.

	Berechnet für $CaC_4H_4O_5$	Gefunden
Ca	23,25	23,17

Versuche mit dem ausgepreßten Saft von Opuntia versicolor.

In Opuntia versicolor schwankt die Acidität von 1 ccm des ausgepreßten Saftes = 2,45 ccm $^n/_{10}$-KOH kurz vor Sonnenaufgang bis 1 ccm = 0,31 ccm $^n/_{10}$-KOH 5 Uhr nachmittags im Februar. Daß die Entsäuerung wenigstens nicht ganz an die Lebensprozesse der Pflanze gebunden ist, zeigt die Tatsache, daß der ausgepreßte Saft, dem Sonnenlichte ausgesetzt, unter Kohlensäureentwicklung an Säure abnimmt.

a) Durch 150 ccm verdünnten Saft im Quarzgefäß wurde ein langsamer Strom CO_2-freier Luft geleitet. 10 ccm = 7,09 ccm $^n/_{10}$-KOH. Nach 2stündiger Beleuchtung im Sonnenlicht: 10 ccm = 4,90 ccm $^n/_{10}$-KOH, 0,81 g $BaCO_3$ = 0,18 g CO_2.

Die belichtete Lösung wurde destilliert, im Destillat wurde Formaldehyd und Ameisensäure deutlich nachgewiesen.

b) 300 ccm des klaren Saftes in einem großen Kolben mit 0,5 ccm Chloroform und Baumwollstöpsel, 10 ccm = 7,80 ccm $^n/_{10}$-KOH. Nach 5tägigem Belichten in der Sonne: 10 ccm = 3,65 ccm $^n/_{10}$-KOH. Der Kontrollversuch im Dunkeln änderte den Titer nicht.

---

[1]) Aubert, Rev. gén. de botan. 2, 369, 1890.

Nach der Besonnung ist das Reduktionsvermögen für Fehlingsche Lösung stets höher; doch kann aus diesem Umstand kein Schluß gezogen werden, da in dem Saft natürlich auch hydrolysierbarer Zucker vorhanden ist. W. R. Bloor[1]) gibt an, eine Überführung von Äpfelsäure zu Zucker erzielt zu haben. Junge Sprosse von Ahorn (Acer Saccharium) wurden in Wasser zerhackt und dann mit Äpfelsäure dem Sonnenlicht ausgesetzt. Von dem größeren Reduktionsvermögen für Fehlingsche Lösung des besonnten Gemisches schloß Bloor auf eine Überführung von Äpfelsäure zu Zucker. Daß diese Reduktion von einer Reihe von Körpern (Produkte der Photolyse der Äpfelsäure) herrühren kann, wird aus den weiter unten gegebenen Versuchen ersichtlich sein.

Es ist auch höchst unwahrscheinlich, daß die Succulenten (wenigstens die Cactusarten) ein Enzym enthalten, das die Zersetzung der Äpfelsäure beschleunigt. Die anorganischen Salze jedoch reagieren katalytisch und beschleunigen die Zersetzung bedeutend.

Die Pflanzenteile wurden in der Fleischhackmaschine fein zerkleinert und dann der Saft ausgepreßt. 700 ccm Cactussaft wurden langsam in 1 l Alkohol gegossen. Es entstand hierbei ein dicker grauer Niederschlag; dieser wurde rasch abfiltriert, gewaschen und endlich im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Das Produkt war ein weißes Pulver, in Wasser leicht löslich, reagiert etwas sauer und reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Durch Kochen der wässerigen Lösung entsteht ein dicker Niederschlag.

c) 1. 230 ccm einer $1\,^0/_0$igen Äpfelsäurelösung im Sonnenlicht.

2. 230 ccm derselben Lösung, Kontrolle im Dunkeln.

3. 230 ccm derselben Lösung nebst $1\,^0/_0$ des obigen Niederschlags.

4. Dasselbe im Dunkeln.

5. Dasselbe, während 3 Minuten gekocht, im Sonnenlicht.

6. 230 ccm der Lösung wie 3., unter Wasserstoff, im Sonnenlicht.

Alle mit Baumwollstöpsel und 0,5 ccm Chloroform.

---

[1]) Journ. Amer. Chem. Soc. **34**, 534, 1912.

10 ccm gleich den angegebenen Mengen $^n/_{10}$-KOH:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
3. I.:	16,48	16,48	16,42	16,42	16,40	16,42
10. I.:	16,29	16,60	11,50	16,49	11,40	16,31

Der Versuch 1. und 3. zeigt, wie bedeutend der Niederschlag die Zersetzung beschleunigt; 5. daß hier von einem Enzym nicht die Rede sein kann; 6. daß Sauerstoff bei der Zersetzung nötig ist.

Der vorsichtig dialysierte Niederschlag, frei von anorganischen Salzen, zeigt keine beschleunigende Wirkung. Die durch Eindampfen des Saftes und darauffolgende Veraschung erhaltenen, in Äpfelsäure löslichen anorganischen Salze[1]) üben denselben beschleunigenden Einfluß aus.

Photolyse einiger organischen Säuren, speziell der Äpfelsäure.

Mayer[2]), der auf Grund theoretischer Überlegungen eine Reduktion von Äpfelsäure zu Zucker im Lichte für möglich hielt, hoffte mit der Methode von St. Victor und Corvissart[3]) zum Ziele zu kommen. Im Lichte und in Gegenwart kleiner Mengen von Uraniumsalzen fand er eine rasche Verminderung des Titers einer Äpfelsäurelösung, Kohlensäureentwicklung sowie eine Reduktion des Uransalzes. Das Gemisch reduzierte auch Fehlingsche Lösung.

Purjewicz[4]) fand in Bestätigung der Angaben von Bergmann, daß beim Zerfall der Säuren in der Pflanze diese an flüchtigen Säuren zunimmt. Von diesen konnte stets Essigsäure sicher nachgewiesen werden, während die Anwesenheit von Ameisensäure fraglich blieb.

Bacon[5]) bemerkt in einer vorläufigen Mitteilung seiner photochemischen Versuche an einer Reihe organischer Säuren mit Uraniumsalz, daß die Äpfelsäure wohl zunächst unter Kohlensäureabspaltung zu Milchsäure geht und die letztere dann in Acetaldehyd und Ameisensäure zerfällt. Mayer versuchte auch auf diese Weise Milchsäure zu erhalten; dies ist ihm aber nie gelungen.

Neuberg[6]) fand bei einer Äpfelsäurelösung, der 0,5 bis 1,0% Uraniumsalz zugesetzt und die dann dem Sonnenlicht ausgesetzt wurde:

---

[1]) Über deren Zusammensetzung siehe Griffiths und Hare, New Mexico Agricult. Experim. Stat. Bull. **60**, 96, 1906: SiO_2: 0,49; Fe: 0,26; Al: 0,00; Mn: 0,16; Ca: 29,53; Mg: 4,76; K: 6,59; Na: 1,67; PO_4: 2,49; SO_4: 2,55; Cl: 2,38; CO_2: 45,37.

[2]) Landw. Versuchsstat. **21**, 277, 1878.

[3]) Annal. d. Chem. (Liebig) **43**, 114.

[4]) Botan. Centralbl. **58**, 368, 1893.

[5]) Philippine Journ. Sc. **2A**, 129, 1907.

[6]) Diese Zeitschr. **13**, 305, 1908.

Reduktion von Fehlingscher Lösung schon in der Kälte, Geruch nach Karamel, anfangs positive, später negative Reaktion mit Naphthoresorcin. Mit Phenylhydrazin kleine Mengen vom Osazon der Oxybrenztraubensäure (bzw. des Mesoxalsäurehalbaldehyds).

Dieselben Resultate erhielt Neuberg[1]) unter Verwendung von Eisensalz als Katalysator, was von besonderem Interesse ist.

Vor kurzem untersuchte Benrath[2]) die Oxydationswirkung des Eisennitrats auf Äpfelsäure in wässeriger Salpetersäurelösung, im Lichte der Quecksilberbogenlampe und in der Sonne. Nebst den gasförmigen Produkten ist Glyoxal als Hauptprodukt der Photolyse angegeben[3]).

Es muß nun besonders hervorgehoben werden, daß die intermediären Produkte solch einer Photolyse, gleich einer Fermentreaktion, äußerst schwierig zu fassen sind, wenn nicht die richtigen Bedingungen für ihre Anhäufung gegeben sind. Die photochemische Empfindlichkeit vieler Substanzen ist auch bedeutend größer im Moment ihrer Bildung, als wenn von diesen Substanzen ausgegangen wird. So ist es z. B. im weiter unten angegebenen Fall beinahe unmöglich, die in der Photolyse gebildete Oxalsäure, auch in Gegenwart von Calciumsalzen, in größeren Quantitäten zu erhalten.

Wie schon aus den Versuchen von Kraus hervorgeht, sind es die blauvioletten Strahlen, welche die Zersetzung der Äpfelsäure in den Pflanzen verursachen. Für das Studium der Photolyse der organischen Säuren benutzte ich als Lichtquelle zum Teil eine Quecksilberbogenlampe aus Quarz von Heraeus, 220 Volt und 3,5 Ampere, zum Teil das Sonnenlicht[4]).

[1]) Diese Zeitschr. **29**, 279, 1910.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. **86**, 341, 1912.

[3]) In den Versuchen von Benrath ist keineswegs ausgeschlossen, daß die äußerst reichliche Bildung von Glyoxal auf der bekannten Oxydation von Acetaldehyd (s. unten) mittels HNO_2 beruht, also nicht eine rein photochemische Reaktion ist. Vgl. Nef, Journ. Amer. Chem. Soc. **36**, 1574; Denis, Amer. Chem. Journ. **38**, 561, 1907.

[4]) Das hiesige Laboratorium befindet sich mitten in der nordamerikanischen Wüste, bei ca. 1000 m Höhe. Die Luft ist staubfrei und äußerst trocken, der Himmel fast beständig wolkenlos, so daß die Lichtintensität sehr hoch ist. Hauptsächlich ist dies der Fall bei den blauvioletten Strahlen. Es werden täglich Lichtmessungen nach verschiedenen Methoden gemacht. Die Intensität der violetten Strahlen der Quecksilberlampe ist etwa die 5fache der Sonne. Vgl. Report. Dept. of Botanical Research. Yearbook Carnegie Inst. of Washington 1913. Betreffs der von Kluyver (Österr. botan. Zeitschr. **63**, 49, 1913) neulich veröffentlichten, wohlbegründeten Kritik über die Berechtigung, die mit

Die Gefäße bestanden aus Glas sowie aus transparentem Quarz. In Quarzgefäßen verlaufen die Reaktionen natürlich bedeutend rascher als in Glas. Kontrollversuche im Dunkeln wurden immer zur gleichen Zeit angestellt.

Daß die Zersetzung durch das Licht und nicht etwa durch die Hitze erfolgt, zeigt folgender Versuch:

2 g Äpfelsäure wurden im Quarzgefäß in 50 ccm Wasser gelöst und der Kolben mit Stanniol bedeckt und im Wasserbade auf 70° erwärmt. Der Kolben war mit zwei Zylindern, mit $Ba(OH)_2$ gefüllt, verbunden; durch den ganzen Apparat wurde CO_2-freie Luft gesaugt. In 24 Stunden wurde in den $Ba(OH)_2$-Zylindern keine Spur von $BaCO_3$ gebildet, und der Titer der Lösung blieb derselbe.

Auch zerfällt die Säure äußerst langsam in Abwesenheit von Sauerstoff.

Eine Lösung von ca. 11 g Äpfelsäure in 1100 ccm Wasser wurde in 3 Teile geteilt: a) in einem großen Kolben, mit Baumwollstöpsel verschlossen, dem Sonnenlicht ausgesetzt.

b) in einem gleichgroßen Kolben, aber mit Wasserstoff gefüllt, im Sonnenlicht.

c) wie a) im Dunkeln.

10 ccm der Lösung gleich 15,79 ccm $^n/_{10}$-KOH, nach 2 Tagen waren 10 ccm a) gleich 14,75; b) gleich 15,70; c) gleich 15,75.

Eine 3,0%ige Äpfelsäurelösung, in einem Rundkolben, der mit der Lösung fast ganz gefüllt war und mit einer sehr feinen Capillarröhre verschlossen war, wurde dem Sonnenlicht während 289 Tagen ausgesetzt. In dieser Zeit wurde nur 0,1% der Säure zersetzt.

Ich habe öfters beobachtet, daß auch im Lichte der Quecksilberbogenlampe die Lösungen verschiedener organischer Säuren bei Abwesenheit von Sauerstoff höchst langsam zerfallen. Bei reichlicher Zufuhr von Luft ist es staunenswert, wie leicht die

---

dem ultravioletten Lichte der Heraeuslampe erzielten Ergebnisse auf die bei der Pflanze im Sonnenlichte vor sich gehenden Prozesse zu übertragen, möchte ich bemerken, daß meine Versuche ergaben, daß die Zersetzung der Äpfelsäure in Gegenwart kleiner Mengen der anorganischen Salze des Saftes von Opuntia versicolor im Sonnenlicht etwa ebenso rasch und mit denselben Endprodukten verlief wie im Lichte der Quecksilberbogenlampe.

organischen Säuren bei gewöhnlicher Temperatur im ultravioletten Lichte zerfallen. Auch Weinsäure und Essigsäure, die doch beide bloß durch starke Oxydationsmittel angegriffen werden, werden bei 30° fast quantitativ zu CO_2 oxydiert[1]).

Der Apparat bestand aus einem Rundkolben aus Quarz von etwa 60 ccm Inhalt, der zur einen Seite, mittels Glasröhren, mit Waschflaschen mit KOH und $Ba(OH)_2$, zur anderen Seite mit einem Rückflußkühler, eine mit Wasser gefüllte Waschflasche, zur Absorption etwa flüchtiger Stoffe, und endlich mit zwei Zylindern mit $Ba(OH)_2$- und $BaCl_2$-Lösung gefüllt, verbunden war. Ein Strom Luft wurde langsam durch den ganzen Apparat gesaugt. Die Entfernung von der Lampe war stets 2 cm. Mit Hilfe eines Elektroventilators wurde kühle Luft gegen die Lampe geblasen; die Temperatur der Lösungen war stets 30 bis 33°.

a) 0,49 g Ameisensäure in 50 ccm Wasser während 70 Stunden beleuchtet; erhalten: 1,90 g $BaCO_3$ gleich 0,422 g CO_2, theoretisch möglich: 0,46 g CO_2.

b) 0,539 g Essigsäure in 45 ccm Wasser 200 Stunden beleuchtet; erhalten: 3,20 g $BaCO_3$ gleich 0,711 g CO_2, theoretisch möglich: 0,79 g CO_2.

c) 1 g Weinsäure in 45 ccm Wasser 200 Stunden beleuchtet; erhalten: 4,75 g $BaCO_3$ gleich 1,06 g CO_2, theoretisch möglich: 1,17 g CO_2.

Die Vorversuche zur Ermittelung der intermediären Produkte der Photolyse der Äpfelsäure ergaben stets eine Reduktion mit Tollenscher und Fehlingscher Lösung und starke Färbung mit fuchsinschwefliger Säure.

10 g chemisch reine Äpfelsäure wurden in 200 ccm Wasser gelöst und im Quarzkolben, in Verbindung mit dem oben beschriebenen Apparat, während 35 Stunden mit der Quarzlampe besonnt und Luft durchgezogen. Das Reaktionsgemisch wurde, mit einem Kjeldahl-Destillationsaufsatz versehen, bei 60° und 30 mm Druck destilliert. Das sauerreagierende Destillat wurde mit $KHCO_3$ neutralisiert und nochmals destilliert. Dieses Destillat zeigte die folgenden Reaktionen: fuchsinschweflige Säure: tief violette Färbung; 1% Diphenylamin in konzentrierter

[1]) Vgl. Berthelot und Gaudechon, Compt. rend. **151**, 478, 1911.

Schwefelsäure[1]): deutliche grüne Färbung; 5% Resorcin in 40% NaOH mit gleicher Volumina des Destillates[2]): deutliche Rotfärbung; mit einigen Tropfen einer 0,5%igen Resorcinlösung vermischt und auf konzentrierte Schwefelsäure vorsichtig gegossen, bildete sich eine rotviolette Zone. Die Gegenwart von Formaldehyd ist also sichergestellt. Acetaldehyd wurde nachgewiesen durch die Reaktion von Leys[3]), eine Lösung von Mercurioxyd in Natriumsulfid.

Der Rückstand der zweiten Destillation wurde in Wasser gelöst und nochmals destilliert unter vermindertem Druck. Dieses Verfahren wurde zweimal wiederholt, bis der Rückstand keine Aldehydreaktion mehr erzeugte[4]). In der neutralen Lösung (100 ccm) wurde dann die Ameisensäure bestimmt, indem je 25 ccm mit einem Überschuß einer Lösung von 50 g $HgCl_2$ und 27,5 g Natriumacetat im Liter versetzt wurden und während 6 Stunden im kochenden Wasserbade erhitzt, dann durch ein gewogenes Filter filtriert, das ausgeschiedene HgCl mit warmem Wasser und zuletzt mit Alkohol und Äther gewaschen und bei 100° getrocknet. Die gesamte Menge der Ameisensäure betrug 0,043 g. Die Gegenwart der Essigsäure wurde mittels der Eisenchloridreaktion festgestellt; diese Säure war nicht in bedeutenden Quantitäten vorhanden.

Der Rückstand der ersten Destillation, 6,95 g (größtenteils krystallinisch), wurde in Wasser gelöst und 10 g gepulvertes $CaCO_3$ hinzugesetzt und stehen gelassen, bis das Gemisch neutral war; dann filtriert. Der Rückstand betrug 6,73 g, wurde in HCl gänzlich gelöst, mit NH_4OH alkalisch gemacht, hierbei entstand ein fein krystallinischer Niederschlag. Das Gemisch wurde mit Essigsäure wieder angesäuert, heiß filtriert, mit heißer Essigsäure und Wasser gründlich gewaschen. Der Rückstand wog 0,05 g; dieser mit H_2SO_4- und CO_2-freiem MnO_2 versetzt, entwickelte reichlich CO_2. Es lag also Oxalsäure vor.

Das Filtrat vom überschüssigen Calciumcarbonat und -oxalat wurde auf etwa 40 ccm eingeengt und die löslichen

[1]) Grafe, Öst. botan. Zeitschr. **46**, 289, 1906.

[2]) Vgl. Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden **2**, 15.

[3]) Leys, Chem. Centralbl. 2, 855, 1905. Eine äußerst empfindliche Reaktion, die jedoch mit großer Vorsicht behandelt werden muß.

[4]) Vgl. Stoklasa, diese Zeitschr. **41**, 345, 1912. — Finke, ebenda **51**, 253, 1913.

Calciumsalze mit absolutem Alkohol ausgeschieden. Die Gesamtmenge, 5,14 g, löste sich in 125 ccm heißem Wasser (mit Ausnahme von 0,03 g, wahrscheinlich Calciummalat). Beim Erkalten schieden sich die charakteristischen Krystalle von Calciumglycolat aus.

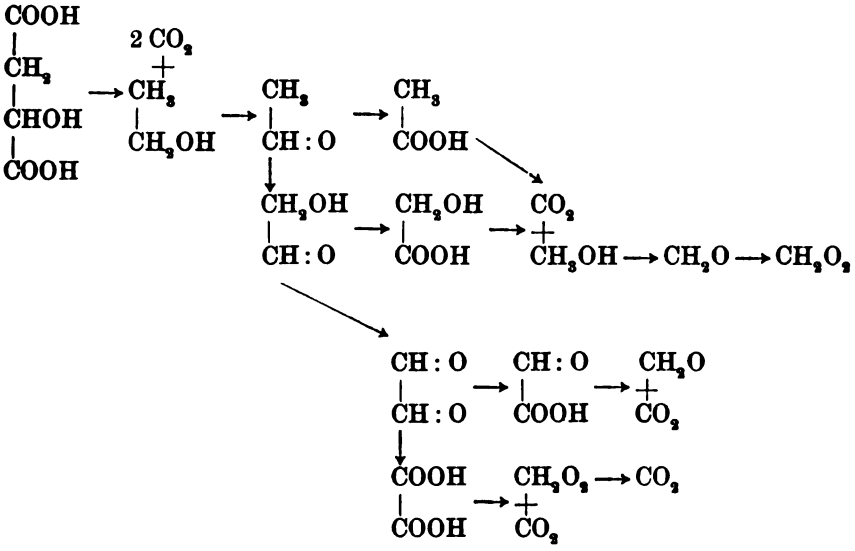
0,5343 g des wasserfreien Salzes gaben beim Glühen 0,1585 g CaO.

	Berechnet für $Ca(C_2H_3O_3)_2$	Gefunden
Ca	21,05	21,19

Aus dem zur Ausscheidung der Calciumsalze verwendeten Alkohol wurden 2,3 g eines dunklen Harzes erhalten, dessen Natur nicht festgestellt werden konnte.

Bei der Photolyse der Äpfelsäure entstehen also: Formaldehyd, Acetaldehyd, Kohlensäure, Ameisensäure, Essigsäure, Glykolsäure und Oxalsäure. Weder Glyoxal- noch Glyoxylsäure konnten, trotz vorsichtigen Suchens, gefunden werden; ihre Abwesenheit ist wohl auf eine zu große photochemische Empfindlichkeit zurückzuführen.

Auf Grund dieser und folgender Versuche ist der Zerfall der Äpfelsäure schematisch repräsentiert wie folgt; die niederen Säuren sind offenbar miteinander durch einfache Reaktionen genetisch verknüpft:



Äthylalkohol wird leicht oxydiert unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen in Gegenwart von atmosphärischem Sauerstoff. Es wird reichlich Kohlensäure gebildet, auch Ameisensäure, Essigsäure und Spuren von Oxalsäure, sowie natürlich viel Acetaldehyd.

5 g Acetaldehyd wurden im Quarzkolben in 150 ccm Wasser gelöst und 10 g gepulvertes $CaCO_3$ zugesetzt, während 16 Stunden im Lichte der Quecksilberbogenlampe besonnt, und während dieser Zeit wurde CO_2-freie Luft durchgesaugt. Nebst reichlicher Kohlensäurebildung waren Ameisensäure, Essigsäure und eine kleine Menge Oxalsäure (0,03 g Calciumoxalat) gebildet[1]).

5 g Essigsäure wurden im Quarzkolben in 40 ccm Wasser gelöst und während 7 Stunden im ultravioletten Lichte besonnt und CO_2-freie Luft durchgesaugt. Das Gemisch enthielt Formaldehyd und Ameisensäure. Keine Spur von Oxalsäure konnte nachgewiesen werden.

6 g Glyoxal (nach dem Verfahren von Lubawin bereitet[2]) wurden im Quarzkolben in 150 ccm Wasser gelöst und 7 Stunden im ultravioletten Lichte besonnt. Neben viel Kohlensäure wurden Formaldehyd, Ameisensäure und Oxalsäure (0,05 g Calciumoxalat) erhalten.

7,8 g Glykolsäure wurden im Glaskolben in 260 ccm Wasser gelöst und während 3 Monaten dem Sonnenlichte ausgesetzt. Es wurde reichlich Kohlensäure gebildet, Formaldehyd und Ameisensäure wurden deutlich nachgewiesen, jedoch keine Spur von Oxalsäure.

Daß Oxalsäure im Lichte sehr rasch in Ameisensäure und Kohlensäure zerfällt, wurde schon von Seekamp[3]) festgestellt und ist seitdem von verschiedenen Forschern festgestellt worden. In Gegenwart eines Katalysators, z. B. Uransalz, wird die Ameisensäure gleich weiter gespalten und ist deswegen nur in kleinen Quantitäten im Reaktionsgemisch vorhanden[4]). Die Ameisensäure zerfällt fast quantitativ in Kohlensäure und

---

[1]) Vgl. Denis, Amer. Chem. Journ. **38**, 561, 1907.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **10**, 1366, 1884.

[3]) Annal. d. Chem. (Liebig) **121**, 113; **133**, 253.

[4]) Bacon, Philippine Journ. Sc. **5 A**, 284, 1910. — Fay, Amer. Chem. Journ. **18**, 269, 1897.

Wasser. Thiele und Wolf[1]) haben jedoch beobachtet, daß beim Verdampfen der belichteten Säure ein gelber, hygroskopischer, sauer reagierender, in Wasser löslicher Rückstand hinterbleibt.

4,8 g Ameisensäure im Quarzgefäß in 250 ccm Wasser gelöst, wurden 6 Stunden insoliert; die verdampfte Lösung hinterließ einen Rückstand von 0,05 g gelben Öls. Der Kontrollversuch mit einer gleichen Menge Säure hinterließ beim Verdampfen 0,02 g. Wegen der geringen Menge konnte Näheres über die Natur des Rückstandes nicht festgestellt werden. Eine Nachprüfung wird mit größeren Quantitäten jetzt unternommen.

Schlußfolgerungen.

Bei den organischen Säuren ist bekanntlich die Zersetzung der Carboxylgruppe der erste Schritt im Verlaufe der Photolyse; auch zeigen die zweibasischen Säuren eine viel größere Lichtempfindlichkeit als die einbasischen. Gleich der Weinsäure verliert nun die Äpfelsäure zunächst zwei Moleküle Kohlensäure; der entstandene Alkohol wird nun leicht weiter oxydiert über Acetaldehyd zu Essigsäure. Diese Säure ist bedeutend beständiger, wird aber auch im gleichen Sinne zersetzt, über Methylalkohol[2]) und Formaldehyd zu Ameisensäure oxydiert, und diese Säure zerfällt nun weiter zu Kohlensäure und Wasser. Die Bildung von Oxalsäure aus Acetaldehyd unter diesen Umständen ist höchst interessant, da das Vorfinden der sehr reichlichen Mengen dieser Säure in den Succulenten hierdurch verständlich wird. Obgleich die Oxalsäure nun auch äußerst lichtempfindlich ist, werden täglich kleine Mengen durch Vereinigung mit Calcium den Zersetzungsvorgängen entzogen und langsam in den Zellen angehäuft. Die Glykolsäure, eine äußerst verbreitete Pflanzensäure, zerfällt auf übliche Weise unter Kohlensäureverlust; der entstandene Methylalkohol wird dann weiter oxydiert. Daß bei der Entsäuerung der Succulenten nun die flüchtigen Säuren zunehmen, ist im Lichte dieser Versuche verständlich. Die Tatsache, daß die Geschwindigkeit des Prozesses

[1]) Arch. f. Hygiene **60**, 29, 1907. — Thiele, Zeitschr. f. anorgan. Chem. **22**, 2472, 1910.

[2]) Gibbs, Philippine, Jr. Sc. **7 A**, 57, 1913.

allmählich abnimmt, ist wohl auf die größere Beständigkeit der Essigsäure und Ameisensäure zurückzuführen.

Trotz wiederholter kritischer Anmerkungen gegen die Berechtigung, aus dem Nachweise von Formaldehyd in den Pflanzen den Schluß zu ziehen, daß die Richtigkeit der Baeyerschen Assimilationshypothese damit bewiesen ist, erscheinen doch stets von Zeit zu Zeit solche Folgerungen. Es wurde nun festgestellt, daß Apfelsäure, Glykolsäure und Essigsäure im Lichte Formaldehyd bilden. Viele andere Pflanzensäuren werden sich höchstwahrscheinlich ebenso verhalten. Das Auffinden von Formaldehyd erlaubt also keinen Schluß über die Richtigkeit oder Unrichtigkeit der Baeyerschen Hypothese. Auch kann offenbar aus dem Nachweis von Ameisensäure in den Blättern kein Schluß betreffs der Kohlensäureassimilation gezogen werden.

Diese Folgerungen gelten nicht nur für die säurereichen Succulenten, sondern für alle Blätter, da organische Säuren doch regelmäßig im Zellsaft der Blätter gelöst sind. Es sei jedoch hiermit nicht gesagt, daß in jedem belichteten Blatt diese Substanzen in nachweisbaren Mengen vorhanden sind; die Anhäufung dieser Substanzen ist zum Teil von der morphologischen Struktur des Blattes abhängig, zum Teil von der photochemischen Empfindlichkeit der betreffenden Substanzen.

Aus den Arbeiten von Kraus und von Warburg geht hervor, daß die Säuren in keinem direkten Zusammenhang mit der Kohlensäurereduktion stehen. Doch ist es nun ersichtlich, daß die Säuren in den Assimilationsprozeß hineingezogen werden können, indem ihre photochemische Zersetzung Substanzen liefert, die zur Synthese von Kohlenhydraten in der Pflanze verwendbar sind.

In diesem Zusammenhang sind noch die sehr interessanten Versuche von Borowikow[1]) zu erwähnen. Dieser Forscher fand eine Parallelität zwischen der Wachstumsgeschwindigkeit der Pflanzen und der Hydratation der Kolloide der Zellen. Dieser Quellungsgrad der Kolloide ist nun durch Säuren bedeutend vergrößert, und so konnte Borowikow auch die beschleunigende Wirkung der Säuren auf die Wachstumsgeschwindigkeit feststellen. Er sagt: „Ich denke, daß nur unter Be-

[1]) G. A. Borowikow, Über die Ursachen des Wachstums der Pflanzen. Diese Zeitschr. 48, 230, 1913; 50, 119, 1913.

dingungen, die überhaupt dem Hydratationsprozeß der Kolloide der Zelle förderlich sind, der Wachstumsprozeß (Streckungsphase) möglich ist, und daß eine jede Bedingung, die diesen Prozeß beschleunigt, auch in gleicher Weise auf die Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit wirkt; die Bedingungen, die diesen Prozeß hemmen, vermindern entweder das Wachstum oder rufen unter den Bedingungen der Koagulation der Eiweißkolloide sogar den Tod der Pflanze hervor. Die allerwichtigsten Faktoren für das Wachstum müssen unter gewöhnlichen Bedingungen die organischen Säuren (und Wärme) sein." Nun ist die Verringerung des Wachstums der Pflanzen durch das Licht (hauptsächlich der stärker brechbaren Strahlen) und die Beschleunigung desselben Prozesses im Dunkeln allgemein bekannt. Im Lichte der Borowikowschen Befunde wäre die hemmende Wirkung des Lichtes auf die Verminderung der Acidität (also der Hydratation der Kolloide) durch das Licht zurückzuführen.

Anhang.

In jüngster Zeit sind verschiedene Arbeiten erschienen über die Reduktion der Kohlensäure im ultravioletten Lichte und über den Mechanismus der Kohlensäureassimilation in den Pflanzen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind jedoch widersprechend. Usher und Priestly[1]) geben an, Formaldehyd erhalten zu haben durch die Besonnung einer wässerigen Kohlensäurelösung mittels der Quecksilberbogenlampe. Berthelot und Gaudechon[2]) konnten eine Reduktion von Kohlensäure zu Formaldehyd nur in Gegenwart von Wasserstoff erzielen. Stoklasa, Šebor und Zdobnický[3]) erhielten Formaldehyd aus Kohlensäure in Gegenwart von Wasserstoff, nur wenn letzterer sich in statu nascendi befindet.

In Weiterführung meiner früheren Versuche[4]) habe ich einige Experimente ausgeführt, deren Ergebnisse hier nur kurz erwähnt werden sollen. 1. Durch Einwirkung der ultravioletten

[1]) Francis L. Usher und J. H. Priestly, Proc. Roy. Soc. **84**, 101, 1911.

[2]) D. Berthelot und H. Gaudechon, Compt. rend. **150**, 1690, 1910.

[3]) Julius Stoklasa und J. Zdobnický, diese Zeitschr. **30**, 432, 1911; **41**, 333, 1912.

[4]) H. A. Spoehr, Science **34**, 63, 1911.

Strahlen auf CO_2 über Wasser im Quarzkolben unter den verschiedensten Versuchsbedingungen von Druck, Temperatur, Lichtintensität und Dauer der Besonnung konnte keine Spur Formaldehyd nachgewiesen werden. 2. Durch Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf CO_2 und Wasserstoff über Wasser im Quarzkolben unter verschiedenen Versuchsbedingungen konnte kein Formaldehyd nachgewiesen werden. 3. Ein Quarzkolben (500 ccm Inhalt) wurde mit 200 ccm Kaliumcarbonatlösung gefüllt; mittels einer K_2CO_3-Brücke und Platinelektrode wurde im Quarzkolben elektrolytisch Wasserstoff in statu nascendi entwickelt. Sehr vorsichtig gereinigte, aus Calciumcarbonat entwickelte Kohlensäure wurde während des Verlaufes des Versuches in die Lösung eingeleitet. Durch die Elektrolyse der K_2CO_3-Lösung entstand Kaliumhydroxyd, das dann durch die Kohlensäure eine fortwährend sich erneuernde Menge von „in Entstehung begriffenes Kaliumcarbonat" lieferte. Die Gase wurden vom Quarzkolben in gekühlte Absorptionsgefäße geleitet. Im ultravioletten Lichte wurde reichlich Ameisensäure gebildet, aber kein Formaldehyd. 4. Eine Reduktion von Ameisensäure zu Formaldehyd, trotz wiederholten Versuchen unter den verschiedensten Umständen, ist mir nie gelungen. Obgleich Stoklasa die Ameisensäure als Zwischenprodukt der Reduktion von Kaliumbicarbonat zu Formaldehyd annimmt, ist eine solche Reduktion durch die Energie des Lichtes meines Wissens nach noch nicht erzielt worden. Im Lichte dieser widersprechenden Resultate scheint mir eine Nachprüfung der verschiedenen Experimente von anderen Forschern für die Entwickelung dieser hochwichtigen Frage äußerst wünschenswert.

Studien in der Chlorophyllgruppe. XVIII.

Von

L. Marchlewski.

Über Phyllocyanin und Phylloxanthin.

Von

H. Malarski und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau.)

(Eingegangen am 9. Oktober 1913.)

Phyllocyanin.

Phyllocyanin und Phylloxanthin gehören bekanntlich zu den am längsten bekannten Chlorophyllderivaten. Der Begriff beider Stoffe wurde am genauesten von E. Schunck gegeben, und diesem Forscher verdanken wir auch die ersten Bemühungen, beide Substanzen im reinen Zustande zu isolieren. Der eine von uns hat bereits früher gezeigt, wie man zum Phyllocyanin verhältnismäßig leicht gelangen kann, und zwar unter Anwendung desselben Ausgangsmaterials, das in den grundlegenden Untersuchungen von Schunck benutzt wurde. Da wir in den letzten Jahren in den Besitz etwas größerer Mengen des Phyllocyanins gelangten, so konnten wir an die Feststellung seiner Formel schreiten, sowie auch seine Beziehungen zu dem früher von uns beschriebenen Anhydro-β-Phyllotaonin aufklären. Was das Phylloxanthin anbelangt, so enthält die vorliegende Mitteilung den endgültigen Beweis seiner Identität mit dem Allochlorophyllan.

Darstellung des Phyllocyanins.

1. 10 g Chlorophyllan wurden mit 1000 ccm konz. Salzsäure übergossen und, von Zeit zu Zeit schüttelnd, 24 Stunden stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde durch Glaswolle filtriert und das Filtrat in 5 l Wasser gegossen. Der abgeschiedene

schmutzig braungrüne Niederschlag wurde auf dem Filter tüchtig mit Wasser gewaschen und im Wassertrockenschrank getrocknet. 5 g des Niederschlages wurden in Chloroform gelöst, vom Ungelösten abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde in 3 l Äther gelöst und nach dem Verfahren von Willstätter und Mieg fraktioniert. Zuerst wurde die ätherische Lösung mit 10% Salzsäure ausgezogen, dieselbe färbte sich nur schwach. Dem Spektrum der ätherischen Lösung des ausgezogenen Farbstoffs nach zu schließen hat man es nur mit Phyllocyanin zu tun, das hauptsächlich, wie bereits früher angegeben, von 15% Salzsäure aufgenommen wird. Der salzsaure (15%ige) Auszug wurde 3 mal mit Äther gewaschen und in das 3 fache Volumen von Wasser gegossen. Das abgeschiedene Phyllocyanin wurde nach dem Verdampfen des Äthers abfiltriert und nach dem Waschen mit Wasser getrocknet. Schließlich wurde in Chloroform gelöst, vom Ungelösten abfiltriert und bei gelinder Wärme eingetrocknet. Erhalten wurden in dieser Art 0,9 g Phyllocyanin.

2. Die obige Darstellungsart wurde soweit abgeändert, daß 10 g Chlorophyllan diesmal nur mit 500 ccm konz. Salzsäure behandelt wurden, und zwar nur während 4 Stunden. Erhalten wurde 1 g Phyllcyanin.

3. 5 g Chlorophyllan wurden in 100 g Chloroform gelöst und die Lösung in 500 ccm konz. Salzsäure unter häufigem Schütteln eingetragen. Nach 2 tägigem Stehen wurde mit Wasser verdünnt und der nach dem freiwilligem Verdampfen des Chloroforms sich abscheidende Farbstoff wurde weiterhin wie unter 1. und 2. beschrieben gereinigt. Auch hier war die Ausbeute klein, d. h. betrug 10% des angewandten Chorophyllans.

4. 2 g Chlorophyllan wurden in 1 l Äther gelöst und die Lösung unter Wasserkühlung mit 200 ccm konz. Salzsäure im Scheidetrichter während einiger Minuten geschüttelt. Der in die konz. Salzsäure übergegangene Anteil des Chlorophyllans ist hauptsächlich Phyllocyanin. Die saure Lösung wird 2 mal mit je 250 ccm Äther ausgewaschen und sodann in 2 l Wasser gegossen. Sodann wurde sofort mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit 250 ccm 10%iger Salzsäure durchgewaschen und sodann durch Extrahieren mit 15% Salzsäure das Phyllocyanin entzogen. Dazu waren 2 l dieser Säure nötig.

Dieselbe wurde nun 2 mal mit je 250 ccm Äther gewaschen, mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und das Phyllocyanin mit $^1/_2$ l Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird endlich mit Wasser gewaschen, über schwefelsaurem Natrium getrocknet und langsam eingedampft, wobei das Phyllocyanin in prächtigen rhombischen Blättchen abgeschieden wird. Um uns zu vergewissern, daß die angegebene Fraktionierung genügend differenziert war, haben wir noch 3 weitere Versuche ausgeführt, bei denen die ursprüngliche ätherische Lösung mit $10\,^0/_0$iger, $12^1/_2\,^0/_0$iger, $15\,^0/_0$iger, $17^1/_2\,^0/_0$iger und $20\,^0/_0$iger Salzsäure extrahiert wurde. Bei richtiger Ausführung des Versuches nimmt die $10\,^0/_0$ige Säure nur Spuren von Farbstoff auf. Die $12^1/_2\,^0/_0$ige Säure nimmt schon etwas mehr, die $15\,^0/_0$ige die Hauptmenge auf. Diese zwei Fraktionen wurden auf die übliche Art verarbeitet und die Farbstoffe isoliert. Sie zeigten völlig übereinstimmende Eigenschaften, und zwar bei optischen Messungen wie auch analytischen Untersuchungen. Für ihre Identität spricht aber besonders der folgende Versuch. Je 0,05 g jeden Farbstoffs wurden in 250 ccm Äther gelöst; je 30 ccm dieser Lösungen wurden mit dem gleichen Volumen $12\,^0/_0$iger Salzsäure geschüttelt und die Extinktionskoeffizienten im Na-Licht sowohl der ätherischen wie der salzsauren Lösungen bestimmt. Die sauren Extrakte gaben

für den Farbstoff der $15\,^0/_0$igen Fraktion $E = 1{,}8747$
„ „ „ „ $12^1/_2\,^0/_0$igen „ $E = 1{,}9723$

Die ätherischen Überreste gaben

für den Farbstoff der $15\,^0/_0$igen Fraktion $E = 0{,}5494$
„ „ „ „ $12^1/_2\,^0/_0$igen „ $E = 0{,}5535$

Die gefundenen Extinktionskoeffizienten können als hinreichend nahe bezeichnet werden; sie würden mehr auseinander gehen, wenn die Farbstoffe nicht identisch wären.

Die $17^1/_2\,^0/_0$igen und $20\,^0/_0$igen Säurefraktionen enthalten neben Phyllocyanin Neochlorophyllan und unter Umständen auch Säurezersetzungsprodukte des Allochlorophyllans.

Eigenschaften des Phyllocyanins.

Dieselben wurden bereits sehr genau von E. Schunck geschildert. Als bestes Lösungsmittel für Krystallisationszwecke halten wir für Phyllocyanin reinen Äther; am leichtesten lös-

lich ist es in Chloroform. Letztere Lösung hat einen ausgesprochenen violetten Stich, was früher nicht betont wurde. Dies ist insofern wichtig, als dieser Farbenton nur von solchen Präparaten gezeigt wird, die bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet waren. Präparate, die bei 110° getrocknet sind, lösen sich in Chloroform mit olivengrüner Farbe und zeigen den erwähnten violetten Stich nicht. Diese Änderung der optischen Eigenschaften wird augenscheinlich durch eine Dehydratisation veranlaßt. 0,2551 g des vakuumtrocknen Phyllocyanins (gewonnen aus der 15%igen HCl-Fraktion) verloren bei 110° 0,0158 g, d. h. 5,96%[1]).

Zusammensetzung des Phyllocyanins.

a) Analysen von im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Präparaten (gewonnen aus der 15%igen HCl-Fraktion).

1. 0,1005 g gaben 7,45 ccm N, $t = 17{,}2°$, $b = 744{,}5$ mm, N = 8,38%.

2. 0,1007 g gaben 7,42 ccm N, $t = 16{,}9°$, $b = 747{,}2$ mm, N = 8,36%.

3. 0,1070 g gaben 0,2746 g CO_2 und 0,0616 g H_2O, C = 69,99%, H = 6,44%.

4. 0,1017 g gaben 0,2575 g CO_2 und 0,0558 g H_2O, C = 69,08%, H = 6,14%.

b) 0,1005 g gaben 8,1 ccm N, $t = 22{,}5°$, $b = 747$ mm, entsprechend 8,90%.

c) Der aus der 12½%igen HCl-Fraktion gewonnene Farbstoff gab bei der Analyse folgende Werte:

1. 0,1006 g gaben 7,4 ccm N, $t = 17{,}9°$, $b = 747{,}5$ mm.

2. 0,1027 g gaben 0,2608 g CO_2 und 0,0558 g H_2O, entsprechend 69,26% C und 6,08% H.

Analysen von Präparaten, die im Toluolbade getrocknet waren:

d) 1. 0,1270 g gaben 10,75 ccm N, $t = 18{,}7°$, $b = 743$ mm, entsprechend 9,46% N.

2. 0,1038 g gaben 8,6 ccm N, $t = 18°$, $b = 746$ mm, entsprechend 9,35% N.

3. 0,1006 g gaben 8,55 ccm N, $t = 16{,}3°$, $b = 733{,}8$ mm, entsprechend 9,50% N.

4. 0,0990 g gaben 8,31 ccm N, $t = 14{,}8°$, $b = 730{,}9$ mm, entsprechend 9,43% N.

5. 0,0981 g gaben 0,2511 g CO_2 und 0,0620 g H_2O, entsprechend 69,81% C und 7,07% H.

6. 0,0999 g gaben 0,2558 g CO_2 und 0,0586 g H_2O, entsprechend 69,83% C und 6,56% H.

---

[1]) Vergleiche auch weiter unten.

7. 0,1044 g gaben 0,2697 g CO_2 und 0,0590 g H_2O, entsprechend 70,45% C und 6,32% H.

8. 0,1022 g gaben 0,2640 g CO_2 und 0,0581 g H_2O, entsprechend 70,45% C und 6,36% H.

Die obigen Analysen stammen aus den Jahren 1910, 1911, 1912 und wurden zum Teil von den Herren Żurkowski und Marszałek ausgeführt. Zu jener Zeit wurde auch die Tatsache festgestellt, daß Phyllocyanin Methoxyl enthält, aber die Substanz reichte nicht aus, um genaue quantitative Bestimmungen vorzunehmen. Im Jahre 1912/1913 wurde das Studium des Phyllocyanins fortgesetzt.

Zunächst wurde festgestellt, daß das Trocknen im Vakuum sehr viel länger dauern muß, bis wirkliche Gewichtskonstanz erzeicht wird. Beispielsweise mußten 0,7300 g 3 Monate lang getrocknet werden, obwohl die Gewichtsabnahme zum Schluß nur 1,15% ausmachte.

Dieses Präparat zeigte folgende Zusammensetzung:

e) 1. 0,1013 g gaben 0,2595 g CO_2 und 0,0582 g H_2O, entsprechend 69,86% C und 6,43% H.

2. 0,1005 g gaben 8,6 ccm N, $t = 25°$, $b = 742{,}5$ mm, entsprechend 9,27% N.

Dieses Präparat wurde sodann im Toluolbade bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei es 3,48% verloren hatte. Analysiert gab es folgende Werte:

f) 1. 0,1100 g gaben 9,3 ccm N, $t = 18°$, $b = 740{,}5$ mm, entsprechend 9,47% N.

2. 0,1101 g gaben 0,2842 g CO_2 und 0,0626 g H_2O, entsprechend 70,40% C und 6,36% H.

Diese Werte stimmen mit den früher erhaltenen, wie ersichtlich, sehr gut überein. Der Durchschnittswert der N-Zahlen betrug früher 9,43% und die Werte für Kohlenstoff und Wasserstoff 70,13 bzw. 6,57%. Im Präparat f) wurde auch die Methoxylzahl bestimmt:

0,2764 g gaben 0,1010 g AgJ, entsprechend 4,83% OCH_3.

Die erhaltenen Werte wurden zur Aufstellung der Phyllocyaninformel benutzt, wie weiter unten gezeigt wird.

Über das Verhalten des Phyllocyanins zu Alkalien.

In seinen grundlegenden Untersuchungen über das Phyllocyanin hat Schunck gezeigt, daß diese Substanz sehr emp-

findlich auf die Wirkung von Alkalien ist. Diese Tatsache wurde hauptsächlich mit Hilfe spektroskopischer Methoden demonstriert. Wird nämlich Phyllocyanin in alkoholischer KOH gelöst und sodann nach dem Ansäuern mit Salzsäure, Verdünnen mit Wasser, in Äther aufgenommen, spektroskopisch untersucht, so zeigt die Lösung nach einiger Zeit ein im Vergleich mit dem ursprünglichen Phyllocyaninspektrum anderes optisches Verhalten. Das Band im Rot und im Grün erscheint in zwei Bänder gespalten. Dieses Spektrum wurde längere Zeit als Charakteristikum des Phyllotaonins betrachtet, und erst der eine von uns und Koźniewski zeigten, daß es ein Mischspektrum ist und zum Teil durch das Anhydro-β-Phyllotaonin veranlaßt wird, das aus dem Alkachlorophyll gewonnen wurde. Es lag daher die Annahme nahe, daß Phyllocyanin bei der Alkalibehandlung dasselbe Anhydro-β-Phyllotaonin liefert; diese Annahme wurde auch bestätigt gefunden, dabei wurde aber auch konstatiert, daß diese Substanz bzw. ihr Hydrat nicht das einzige Umwandlungsprodukt des Phyllocyanins ist, sondern daß noch ein zweites gebildet wird, das in keiner näheren Beziehung zum Anhydro-β-Phyllotaonin steht.

Zunächst mögen einige Vorversuche mitgeteilt werden.

a) 0,1 g Phyllocyanin wurde in 50 ccm $1\,\%$iger wässeriger Kalilauge gelöst. Nach 18stündiger Einwirkung wurde von einer geringen Menge noch ungelöster Flocken abfiltriert, ganz schwach mit Salzsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Die ätherische, olivgrüne Lösung wurde sodann mit 6, 15 und $20\,\%$iger Salzsäure extrahiert. Die schwächste Säure extrahierte beinahe die Hälfte des Farbstoffs, ziemlich viel die $15\,\%$ige, und die $20\,\%$ige entzog den Rest vollständig.

b) 0,1 g Phyllocyanin wurde ganz analog behandelt wie bei a), aber die Wirkungsdauer war länger, nämlich 46 Stunden. Die relativen Mengen der erhaltenen Farbstoffe, die durch die verschiedene Basizität unterschieden sind, waren jedoch die gleichen wie im vorigen Versuch. Um zu sehen, ob eine vollständigere Umwandlung in den am stärksten basischen Farbstoff erzielt werden kann, wurde im nächsten Versuch eine stärkere Kalilauge angewandt.

c) 0,1 g Phyllocyanin wurde mit 100 ccm $5\,\%$iger wässeriger Kalilauge behandelt. Nach 16 Stunden wurde das Farbstoff-

gemisch in Äther übergeführt und wiederum mit Salzsäure verschiedener Konzentration extrahiert. Die Menge des von 6%iger Salzsäure aufgenommenen Farbstoffs war hier tatsächlich bedeutend größer als in den beiden vorangehenden Versuchen. Der aus der 6%igen Säurefraktion auf übliche Art gewonnene Farbstoff wurde nach dem Eindampfen der ätherischen Lösung im Trockenschrank bei 110° getrocknet, dann in Äther gelöst und spektroskopisch untersucht. Es erwies sich, daß man es mit dem bekannten sog. Phyllotaoninspektrum zu tun hat, das, wie erwähnt, ein Mischspektrum ist. Die ätherische Lösung wurde mit 15%iger Salzsäure extrahiert, und die zurückbleibende ätherische Lösung zeigte nun das typische Spektrum des Anhydro-β-Phyllotaonins. Die teilweise Umwandlung des Phyllocyanins in Anhydro-β-Phyllotaonin unter dem Einfluß von Alkalien und der späteren Nachbehandlung ist also durch dieses Experiment sehr wahrscheinlich gemacht. Dieser Schluß wird durch das folgende Experiment erhärtet.

d) 1,2 g Phyllocyanin wurde in derselben Weise wie unter c) beschrieben mit 5%iger wässeriger Kalilauge behandelt. Die Einwirkungsdauer betrug einige Tage und wurde erst unterbrochen, als ein Versuch mit einer kleinen Probe uns belehrte, daß der Farbstoff beinahe vollständig durch 6%ige Salzsäure seiner ätherischen Lösung entzogen wird.

Nachdem die ganze Menge nach solchen Vorversuchen dem Äther entzogen werden durfte, wurde mit 6%iger Salzsäure extrahiert, wobei ein kleiner Teil des Farbstoffs doch noch im Äther zurückblieb. Die 6%ige HCl-Lösung wurde mit Wasser verdünnt und dann mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Na_2SO_4 getrocknet und der Äther abgedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform gelöst und diese Lösung mehrere Tage unter Rückfluß gekocht. Trotzdem zeigte die Lösung kein reines Anhydro-β-Phyllotaonin-Spektrum, außerdem wurde gefunden, daß ein kleiner Teil des Farbstoffs in in Chloroform unlöslicher Form ausfiel. Von letzterem wurde abfiltriert und das Chloroform weggedampft. Mittels 15%iger Salzsäure wurde dann die ätherische Lösung des Trockenrückstandes in zwei Farbstoffe zerlegt, von denen der in dieser Säure unlösliche identisch mit Andhydro-β-Phyllotaonin sein mußte. Das Spektrum erwies sich in der Tat mit diesem

identisch, und auch die Zusammensetzung ist dieselbe, es wurden nämlich folgende Werte erhalten:

0,0969 g gaben 0,2488 g CO_2 und 0,0537 g H_2O, entsprechend 70,02% C und 6,20% H.

Die Menge des gebildeten Anhydro-β-Phyllotaonins betrug nur 13% des angewandten Phyllocyanins. Der Farbstoff, der nach der Isolierung des Anhydro-β-Phyllotaonins zurückblieb, wurde in üblicher Weise isoliert und eine vorläufige Analyse ausgeführt:

0,0933 g gaben 0,2383 g CO_2 und 0,0579 g H_2O, entsprechend 69,66% C und 6,94% H.

Trotz der analogen Zusammensetzung ist dieser Farbstoff jedoch entschieden nicht identisch mit Anhydro-β-Phyllotaonin; dies wird besonders dadurch streng bewiesen, daß er beim Erwärmen sein ursprüngliches, dem Phyllocyanin ähnliches Spektrum nicht ändert.

Die Formel des Phyllocyanins.

Trotz der vielen, zum Teil gut übereinstimmenden Analysen wäre es immer noch gewagt, eine definitive empirische Formel für das Phyllocyanin vorzuschlagen. Im Mittel wurden folgende Werte für den C-, H- und N-Gehalt ermittelt, falls die analysierten Präparate bei 110° getrocknet waren:

C = 70,19%[1]), H = 6,53%[2]), N = 9,44%[3]), OCH_3 = 4,83%.

Für diese Werte berechnen sich u. a. die folgenden Formeln:

$C_{34}H_{36}N_4O_5$ bzw. $C_{33}H_{33}N_4O_4(OCH_3)$

(diese verlangt: C = 70,30%, H = 6,26%, N = 9,65%, OCH_3 = 5,34%)

und $C_{35}H_{36}N_4O_5$ bzw. $C_{34}H_{33}N_4O_4(OCH_3)$

(diese verlangt: C = 70,91%, H = 6,12%, N = 9,46%, OCH_3 = 5,23%).

Das bei gewöhnlicher Temperatur getrocknete Phyllocyanin würde den Analysen zufolge 1 Molekül Wasser mehr enthalten.

---

[1]) Mittel aus 5 Werten, der niedrigste 69,81%, der höchste 70,45%.
[2]) „ „ 5 „ „ „ 6,32%, „ „ 7,07%.
[3]) „ „ 5 „ „ „ 9,35%, „ „ 9,50%.

Die Formel $C_{34}H_{38}N_4O_6$ verlangt: C = 68,23%, H = 6,35%, N = 9,36%, und die Formel $C_{35}H_{38}N_4O_6$: C = 68,85%, H = 6,22%, N = 9,18%, während gefunden wurde: C = 69,08 bis 69,99%, H = 6,08 bis 6,44%, N = 8,36 bis 8,9%.

Die Umwandlung des Phyllocyanins in Anhydro-β-Phyllotaonin, für das, wie später gezeigt werden soll, auch die Formel $C_{33}H_{34}N_4O_5$ in Betracht gezogen werden kann, würde sich dann durch die folgenden Gleichungen erklären:

a) $C_{33}H_{32}N_4O_4(OCH_3) + HOH = \underset{\text{Hydrat des Phyllocyanins}}{C_{33}H_{35}N_4O_5(OCH_3)}$

$C_{33}H_{35}N_4O_5(OCH_3) + HOH = C_{33}H_{35}N_4O_5(OH) + HOCH_3$

$\underset{\beta\text{-Phyllotaonin}}{C_{33}H_{35}N_4O_5(OH)} - H_2O = \underset{\text{Anhydro-}\beta\text{-Phyllotaonin}}{C_{33}H_{34}N_4O_5}$

b) $C_{34}H_{33}N_4O_4(OCH_3) + HOH = C_{34}H_{35}N_4O_5(OCH_3)$

$C_{34}H_{35}N_4O_5(OCH_3) + HOH = C_{34}H_{35}N_4O_5(OH) + HOCH_3$

$C_{34}H_{35}N_4O_5(OH) - H_2O = C_{34}H_{34}N_4O_5$

Ähnlich kann auch der Zusammenhang mit dem α-Phylloporphyrin ausgedrückt werden, auch unter Berücksichtigung der allerdings entfernten Möglichkeit, daß dieses Porphyrin nicht 32, sondern 31 C enthält, eine Eventualität, die, wie die Studien von Marchlewski und Robel über das Phyllohämin gezeigt haben, nicht ganz ausgeschlossen ist:

a) $C_{33}H_{34}N_4O_5 + H_2O = C_{31}H_{36}N_4O_2 + 2CO_2$

b) $C_{34}H_{34}N_4O_5 + H_2O = C_{32}H_{36}N_4O_2 + 2CO_2$.

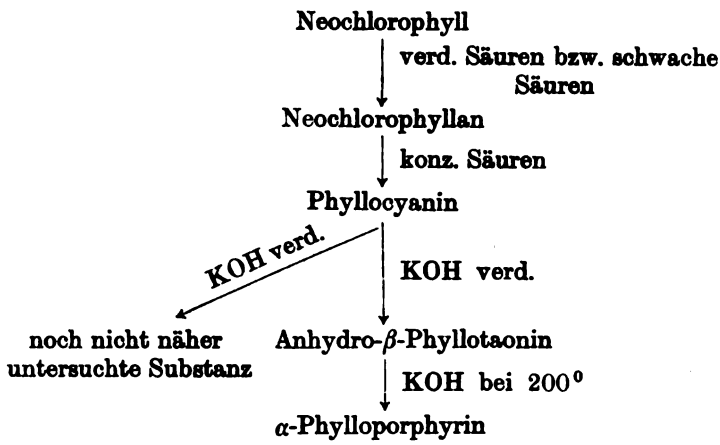
Die Bildung endlich des Phyllocyanins aus dem zugehörigen Chlorophyllan, dem Neochlorophyllan, unter der Annahme, daß hierbei nur das von Willstätter entdeckte Phytol abgespalten wird, würde durch die folgenden Formeln erklärt werden:

a) $C_{54}H_{74}N_4O_5 + H_2O = C_{34}H_{36}N_4O_5 + C_{20}H_{40}O$

b) $C_{55}H_{74}N_4O_5 + H_2O = C_{35}H_{36}N_4O_5 + C_{20}H_{40}O$ [1]).

Der stufenweise Abbau des Neochlorophylls würde sich demnach jetzt, unter Berücksichtigung der zuerst von Kohl ausgesprochenen Ansicht, daß Chlorophyll eine Magnesiumverbindung ist, die unter der Einwirkung von Säuren Magnesium verliert und in Chlorophyllan übergeht, wie folgt gestalten:

[1]) Eventuell kämen auch die Hydratformen des Phyllocyanins in Betracht.



Die noch nicht näher untersuchte Substanz soll demnächst Gegenstand ausführlicher Studien werden. Es ist möglich, daß sie zur Bildung des β-Phylloporphyrins führt, das bekanntlich in großen Mengen aus dem Phyllocyanin gewonnen werden kann.

Es sei nochmals betont, daß wir die hier angeführten Formeln nicht als definitive Ausdrücke ansehen. Sie erklären jedoch gut das bisher etwas näher bekannte Tatsachenmaterial.

Das Spektrum des Phyllocyanins.

Dasselbe wurde bereits häufig beschrieben, aber für Lösungen unbestimmter Konzentration. Wir geben nun die Messungen, die sich auf eine Chloroformlösung des im Vakuum getrockneten Phyllocyanins beziehen, die im Liter 0,4 g enthielt.

Schichtendicke	1 mm	3 mm	5 mm	7 mm	9 mm
Band I	681,5—656,0	687,0—650,0	690,8—644,5	693,0—640,5	695,5—592,0
„ II	619,0—600,0	621,5—598,5	623,5—597,0	626,0—596,0	
„ III	—	567,5—557,5	567,5—556,0	570,0—556,0	572,0—555,5
„ IV	543,0—533,0	544,0—531,0	546,0—529,0	547,3—527,0	
„ V	513,5—494,5	516,5—492,5	519,3—491,0	520,5—489,8	551———
„ VI	—	482,0—463,5	483,5—462,0	483,5—462,0	

Wie ersichtlich, ist dieses Spektrum dem des Neochlorophyllans ganz analog, und dasselbe bezieht sich auch auf den stärker gebrochenen Teil. Auf photographischem Wege wurde konstatiert, daß Phyllocyanin im äußersten sichtbaren Violett und im Ultraviolett drei Bänder erzeugt, die nahezu genau dieselbe Lage einnehmen wie die entsprechenden Neochlorophyllanbänder.

Die Anwesenheit des Phytolrestes übt also auf die optischen Eigenschaften keinen nennenswerten Einfluß aus. Viel markanter ist der Einfluß der Methylestergruppe. Wird nämlich das Spektrum des Phyllocyanins mit dem des β-Phyllotaonins verglichen, so ergibt sich, daß letzteres im Vergleich zu ersterem sozusagen in die Breite gezogen ist. Während das schwache Band III ungefähr die gleiche Lage in beiden Fällen einnimmt, sind die Bänder I und II des Phyllotaonins mehr nach Ultrarot hin, die Bänder IV und V nach Ultraviolett hin verschoben. Welche tiefgreifende Umänderung die Lactamringbildung im β-Phyllotaonin verursacht, haben wir bereits beim Anhydro-β-Phyllotaonin hervorgehoben.

Phylloxanthin Schuncks.

Auch der Begriff des Phylloxanthins wurde zuerst von E. Schunck in seinen grundlegenden Chlorophyllforschungen gegeben. Lange Zeit kannten wir nur eine Darstellungsmethode desselben. Sie beruhte auf der Ausnutzung der geringen Basizität des Phylloxanthins. Das Chlorophyllan, das bekanntlich ein Gemenge von zwei nicht immer in demselben Mengenverhältnis auftretenden Substanzen ist, wird in ätherischer Lösung mit konz. Salzsäure behandelt, wobei das Phylloxanthin in der Hauptmenge von der Salzsäure nicht aufgenommen wird. Eine zweite chemische Methode ergab sich aus der Erkenntnis, daß Chlorophyllan in seine Bestandteile getrennt werden kann, indem man die Tatsache ausnutzt, daß einer derselben das Neochlorophyllan mit $Zn(OH)_2$ weit schneller reagiert unter Bildung einer leicht löslichen Verbindung als das Allochlorophyllan, und daß dieses letztere mit dem Phylloxanthin Schuncks identisch ist. Da nun die chemische Natur des Allochlorophyllans von dem einen von uns bereits aufgeklärt war[1]), so ergibt sich auch die Erkenntnis des Phylloxanthin Schuncks.

Die Darstellung des Phylloxanthins nach der ursprünglichen Schunckschen Methode haben wir wie folgt ausgeführt:

2 g Chlorophyllan wurden in 2 l Äther gelöst und im Scheidetrichter mit 200 ccm konz. Salzsäure (spez. Gew. 1,196) unter Wasserkühlung einige Minuten geschüttelt. Nachdem die Trennung der Schichten bei späterem Stehenlassen der Flüssigkeit eingetreten war, wurde die saure Lösung abgelassen und die

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 24, 1912.

ätherische Lösung wiederholt mit kleinen Mengen von konz. Salzsäure geschüttelt, bis eine Probe das reine Phylloxanthinspektrum zeigte. Dies wurde erst dann erreicht, wenn auch die ätherische Lösung des letzten Salzsäureauszuges dasselbe Spektrum aufwies. Die so gewonnene Substanz wurde dann nach dem Verdampfen des Äthers in Chloroform gelöst und mit Alkohol gefällt. Diese Prozedur wurde noch zweimal wiederholt und das Präparat im Vakuum über KOH getrocknet und analysiert.

1. 0,1055 g gaben 0,2850 g CO_2 und 0,0816 g H_2O, C = 73,68%, H = 8,65%.

2. 0,1032 g gaben 5,7 ccm N, $t = 23°$, $b = 744$ mm; N = 6,06%.

3. 0,1765 g gaben 0,0366 g AgS, entsprechend 2,74% OCH_3.

4. 1,3920 g gaben 0,4819 g Phytol, entsprechend 34,62%.

Die obigen Werte stimmen genügend gut mit denjenigen überein, die früher im hiesigen Laboratorium für das Allochlorophyllan gewonnen wurden, nämlich 73,63 bis 74,03% C, 8,27 bis 8,56% H, 5,74 bis 6,42% N, 2,95 bis 3,15% OCH_3, und da die sonstigen physikalischen, besonders auch optischen Eigenschaften beider Substanzen vollständig übereinstimmen, so ist der Schluß, daß diese Körper identisch sind, vollständig begründet. In Zukunft werden wir die Bezeichnungen Phylloxanthin Schuncks und Allochlorophyllan als synonym betrachten und erstere Bezeichnung nur bei historischen Betrachtungen anwenden. Hingegen soll die Bezeichnung „Phylloxanthin" kurzweg für ein Abbauprodukt des Allochlorophyllans unter dem Einfluß von Säuren reserviert werden, wie das übrigens bereits früher vorgeschlagen wurde. Diesem werden wir eine besondere Mitteilung widmen.

Es muß übrigens hervorgehoben werden, daß die Identität der optischen Eigenschaften des Allochlorophyllans und Phylloxanthin Schuncks bereits Tswett betonte[1]).

Die Darstellung des Phylloxanthins wird natürlich zweckmäßig immer mit der des Phyllocyanins verknüpft. Aber auch etwas Neochlorophyllan kann hierbei isoliert werden, wie dies bereits von Marchlewski und Jacobson mitgeteilt wurde. Diesem Chlorophyllan soll ebenfalls erst später eine besondere Mitteilung gewidmet werden.

[1]) Allerdings ist die Beschreibung der Spektren von Tswett nicht fehlerfrei.

Anhang.

Soeben erhielt ich die neuesten Arbeiten von Willstätter[1]) über Chlorophyll und den Blutfarbstoff, zu denen ich die folgenden Bemerkungen machen muß. Willstätter macht jetzt die Entdeckung, daß es Chlorophyllderivate gibt, die beim Erhitzen mit Alkalien ausschließlich α-Phylloporphyrin geben[2]); dasselbe habe ich in bezug auf das Phyllotaonin behauptet[3]). Es war daher angezeigt, die Bemängelungen, die seinerzeit Willerstätter gegen unsere Arbeit über Phylloporphyrin vorbrachte, zurückzuziehen, leider geschah dies nicht.

Der Satz[4]): „Der enge Zusammenhang zwischen den beiden Chlorophyllkomponenten, den wir trotz der großen Farbenverschiedenheit ihrer bekannten Spaltungsprodukte auf Grund der Analysen angenommen haben, bestätigt sich: Chlorophyllin und Isochlorophyllin b liefern nämlich dieselben Endprodukte, Pyrrophyllin und Phyllophyllin, wie Chlorophyll", sollte, so dürfte man erwarten, durch die Bemerkung ergänzt werden, daß er nichts Neues bringt, sondern nur eine Bestätigung meiner Behauptung darstellt, da ich bekanntlich aus Phyllocyanin und Phylloxanthin β-Phylloporphyrin erhielt, aus ersterem auch α-Phylloporphyrin, während die Bildung des letzteren aus Phylloxanthin zweifelhaft war[5]).

Ebenfalls nicht neu sind die Betrachtungen[6]) über das Verhältnis der Porphyrine zu den anderen, weniger abgebauten Chlorophyllderivaten. Trotz der scheinbar einfachen Gleichung

$$\underset{\text{Anhydro-}\beta\text{-Phyllotaonin}}{C_{34}H_{34}N_4O_5} + H_2O = \underset{\alpha\text{-Phylloporphyrin}}{C_{32}H_{36}N_4O_2} + 2CO_2$$

habe ich mit H. Malarski[7]) hervorgehoben, daß es unwahrscheinlich ist, daß hier nur mit Kohlensäureabspaltung zu rechnen ist, da die optischen, also par excellence konstitutionellen Eigenschaften beider Substanzen so grundverschieden sind.

Die Anschauung über den Grad der chemischen Verwandtschaft des Blutfarbstoffs und Chlorophylls, wie sie jetzt durch die Arbeit von Willstätter[8]) ausgedrückt wird, unterscheidet sich gar nicht von der, die in meinen diesbezüglichen Publikationen befürwortet wird. Meine Untersuchungen gingen von den Porphyrinen beider Farbstoffe aus; diese erweisen sich überaus ähnlich, besonders das Meso- und α-Phylloporphyrin, beide wurden auf dasselbe Chromogen zurückgeführt, und die Untersuchung von Willstätter bestätigt das. In engere Parallele lassen sich natürlich nur die nächsten Abkömmlinge beider Porphyrinreihen bringen, wie ich dies mit Robel[9]) für das Phyllohämin und echte Hämin tat.

---

[1]) Liebigs Annalen **400**, 147, 1913; Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 436, 1913.

[2]) Liebigs Annalen **400**, 150, 1913.

[3]) Diese Zeitschr. **89**, 59, 1912.

[4]) Liebigs Annalen **400**, 151, 1913.

[5]) Diese Zeitschr. **89**, 59, 1912.

[6]) Liebigs Annalen **400**, 151, 1913.

[7]) Diese Zeitschr. **42**, 230, 1912.

[8]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 436, 1913.

[9]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 816, 1912.

Über das Auftreten der Maltase in Getreidearten.

Von

Zenon Wierzchowski.

(Aus dem Mykologischen Institut der Technischen Hochschule in Lemberg.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1913.)

Die Maltase ist sowohl im Pflanzenreich als im Tierreich weit verbreitet; besonders weisen sie Hefen und Pilze in großer Menge auf. Sie ist meist eine Begleiterin der Diastase. Über das Vorkommen dieses Enzyms in höheren Pflanzen, namentlich in Getreidearten, finden wir in der Literatur zwei einander widersprechende Angaben. Nach den Ansichten Cuisiniers[1]) und Gédulds[2]), der ersten Erforscher dieses Enzyms, enthalten alle Getreidefrüchte die Maltase; sie ist auch in Samen anderer Pflanzen vorhanden. Es wurde ihr eine wichtige Funktion zugeschrieben, nämlich die Bildung der in den Pflanzen vorhandenen Glucose.

Die späteren Forscher Morris[3]) und Beyerinck[4]) bestritten diese Behauptungen aber durchaus, da sie die Maltase nur in Sorgho-, Mais- und Hirsefrüchten gefunden hatten. Die Ergebnisse ihrer Arbeiten wurden als richtig angenommen; man fand später die Maltase noch im Buchweizensamen.

Es ist jedoch bekannt, daß während der Verzuckerung der Würze, ev. der Maische mit Hilfe des Gerstenmalzes Glucose in kleinen Mengen entsteht. Diese Tatsache kann man also am einfachsten so erklären, daß in der Gerste, ev. im Malz

---

[1]) La sucr. indigène et coloniale 27, 226.

[2]) Wochenschr. f. Brauerei 8, 545.

[3]) Ebenda 10, 365.

[4]) Centralbl. f. Bakt. 1 [2], 221.

die Maltase vorkommt und die Entstehung der Glucose aus der Maltose oder aus der Stärke verursacht.

Da ich mich während meiner Studien[1]) über die Einwirkung von Maismaltase auf Stärke überzeugte, daß der größte Teil dieses Enzyms im Mais in unlöslicher Form vorhanden ist, so tauchte in mir die Vermutung auf, daß auch in anderen Getreidearten dieses Enzym in solchem Zustande auftritt und deshalb in den Wasserauszügen aus den gekeimten oder ruhenden Samenkörnern nicht gefunden wurde.

Bei den obenerwähnten Versuchen wurde als enzymatisches Agens ein vorher durch erschöpfende Wasserextraktion von Diastase befreites Maismehl benutzt. Ein solches „Präparat" hydrolysierte intensiv Maltose und Stärke, wobei als einziges Zersetzungsprodukt Glucose entstand. Auf Grund dieser Ergebnisse meiner früheren Versuche beschloß ich, ganz ähnliche Präparate aus allen übrigen Getreidearten herzustellen und mit ihnen Hydrolyseversuche auszuführen, um die obige Vermutung über das Vorkommen der Maltase in Getreidearten zu prüfen.

Versuche.

Zur Erforschung wurden folgende Getreidearten herangezogen: Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Hirse, Buchweizen und Mais. Außer Mais, der als Graupen zur Anwendung kam, wurden alle Getreidearten als Körner benutzt. Von Weizen, Roggen, Gerste und Hafer wurden die Keimlingsenden abgeschnitten, so daß nur die Mehlkörper zur Mahlung gelangten. So erzielte man die Abtrennung dieses Samenteiles, der nach den Ansichten mancher Forscher den Sitz der Diastase bildet; der übrigbleibende Teil mit der Aleuronschicht kann dagegen Maltase enthalten, wie sich dies aus den Studien über die Maismaltase ergibt.

Das aus den einzelnen Getreidearten erhaltene Mehl wurde einfach mit Wasser extrahiert; 150 g des Mehles wurden mit 2 l Wasser mittels einer mechanischen Einrichtung fortwährend gerührt. Jede 2 Stunden wurde das Wasser gewechselt, und dieser Prozeß dauerte so lange, bis man in einer Probe der Extraktionsflüssigkeit keine Diastase, ev. nur in Spuren nachweisen konnte.

[1]) Diese Zeitschr. 56, 209, 1913.

Das ausgelaugte Mehl wurde vorsichtig, aber schnell bei 40° getrocknet und noch einmal gemahlen.

Mit derartig präpariertem Mehle versuchte ich die Hydrolyse der Maltose und der Stärke in Glucose zu bewerkstelligen und so das Auftreten der Maltase im entsprechenden Getreidemehle nachzuweisen. Mit allen Getreidesorten wurden die Versuche in folgender Weise angestellt:

50 ccm der 0,9%igen Stärke- und Maltoselösungen und auch des Wassers wurden mit je 0,5 ccm einer 4%igen Formaldehydlösung und je 5 g Getreidemehl versetzt und bei ca. 45° in einem rotierenden Schüttelapparat 24 Stunden gehalten. Nach dieser Zeit wurde in aliquoten Teilen (5 oder 10 ccm) der filtrierten Lösungen die gebildete Glucose bestimmt, und zwar in der Maltoselösung nach der Osazonmethode[1]), in der Stärke- und Kontrollösung nach der Bertrandschen und der obengenannten Methode.

Bei der Untersuchung der Hirse, des Buchweizens und des Maises betrug die Dauer der Maltosezersetzung nur 8 Stunden, denn man erwartete darin einen größeren Maltasegehalt und infolgedessen eine intensivere Fermentwirkung. Es wurde auch das Jodfärbungsvermögen der Stärkelösung bestimmt. In jedem Getreidemehle ermittelte man den Wasser- und Stickstoffgehalt.

Die Ergebnisse waren folgende:

Getreideart			Versuch							
			mit Maltose		mit Stärke					
Name	N-Gehalt in Trockensubstanz	Angewendete Trockensubstanz	Glucosemenge		Erhalten Cu	Hieraus berechnet scheinbare Glucose		Erhaltene Osazonmenge	Hieraus berechn. wirkliche Glucose	Farbe mit Jodlösung
	%	g	mg	%	mg	mg	%	mg	mg	
Roggen . .	1,20	4,64	79,42	88,3	117,90	63,00	70,9	67,4	64,80	violett
Gerste . .	1,19	4,55	48,40	54,3	102,75	54,27	61,1	34,8	41,76	violett
Weizen . .	1,37	4,60	47,00	52,6	120,00	64,24	72,I	43,2	51,84	rot-violett
Hafer . .	1,93	4,44	37,10	41,2	91,50	47,83	53,7	18,6	22,30	violett-rot
Buchweizen	1,88	4,44	71,90	79,8	102,00	53,84	60,5	37,0	44,40	violett
Hirse . . .	2,10	4,60	94,05	104,5	90,30	47,20	53,0	42,0	50,40	violett
Mais . . .	2,71	4,63	94,05	104,5	70,07	39,22	44,0	31,0	37,20	blau-violett

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. 1896, 336.

Die in der Kontrollflüssigkeit gefundene Glucosemenge wurde in Rechnung gezogen.

Aus obigen Daten ergibt sich, daß jedes Getreidepräparat Maltose und Stärke zersetzt, es bildet sich dabei Glucose. Es liegt also auf der Hand, daß alle untersuchten Getreidearten Maltase enthalten.

Was den quantitativen Maltasegehalt in den einzelnen Getreidearten anbelangt, so kann man sich aus nachfolgender Zusammenstellung der Versuchszahlen einen annähernden Begriff darüber bilden.

Getreideart	Präparatmenge g	Versuchsdauer Std.	Gebildete Glucose %
Roggen	4,6	24	87,5
Gerste	4,6	24	54,9
Weizen	4,6	24	52,6
Hafer	4,6	24	42,7
Buchweizen	4,6	8	82,6
Hirse	4,6	8	104,5
Mais	4,6	8	103,8

Man kann also die untersuchten Getreidearten bezüglich des Maltasegehaltes in zwei Gruppen teilen.

Die erste Gruppe umfaßt Roggen, Gerste, Weizen und Hafer; sie enthalten dieses Enzym nur in kleinen Mengen.

Zur zweiten Gruppe gehören die an Maltase reichen Getreidearten, d. i. Hirse, Mais und Buchweizen.

Es ist nicht gelungen, einen Zusammenhang zwischen dem Maltase- und Stickstoffgehalt nachzuweisen.

Aus dem Verlaufe der durch diese Maltasepräparate verursachten Stärkeverzuckerung ist leicht zu ersehen, daß ihre vollkommene Befreiung von der gewöhnlichen Diastase eine schwierige Aufgabe darstellt; besonders schwierig läßt sich die Diastase aus den Hafer-, Weizen- und Gerstenkörnern entfernen.

Das Verhältnis der scheinbaren, in der verzuckerten Stärkelösung vorhandenen Glucose, die nach der Bertrandschen Methode ermittelt wurde, zur wirklichen, nach der Osazonmethode bestimmten Menge dieses Zuckers ist hier maßgebend. Für das

Hafermehl drückt sich dieses Verhältnis durch den Bruch $\frac{2{,}15}{1}$ aus, bei der Anwendung des Weizens und der Gerste durch die Zahlen 1,3 : 1. Bei anderen Getreidearten ist mir fast vollkommene Entfernung der Diastase gelungen; das obengenannte Verhältnis war zirka 1 : 1.

Die Hydrolyse der Stärke durch alle Getreidepräparate verlief so, wie ich dies schon früher für Maismaltase erwiesen hatte. Wurde Verzuckerung durch die fast diastasefreien Präparate bewirkt, so blieb das Jodfärbungsvermögen der verzuckernden Lösung während des ganzen Verlaufs der Einwirkung fast unverändert, was auf den direkten Abbau der Stärkemolekel in Glucose, ohne dextrinartige Zwischenprodukte, hindeutet.

Zur Untersuchung der Löslichkeit der Maltase hatte ich eine Versuchsreihe mit Wasserauszügen der Getreidearten angestellt.

Getreideart	Versuchsdauer Std.	Versuchstemperatur	Erhaltene Osazonmenge in der Maltoselösung mg	Erhaltene Osazonmenge in der Kontrollflüssigkeit mg	Das mikroskopische Osazonbild
Gerste . . .	22	45°	27,0	30,0	In beiden Proben das charakteristische Glucosazon neben amorphen Körpern.
Weizen . .	22	45°	36,4	35,5	
Hafer . . .	22	45°	18,0	19,0	
Buchweizen	22	45°	43,2	13,4	Nur in der eigentlichen Probe reichlich Glucosazon.
Hirse . . .	22	45°	19,0	6,8	In der eigentlichen Probe reichlich Glucosazon, in der Kontrollprobe nur Spuren.

Die gemahlenen Weizen-, Buchweizen-, Hirse-, Hafer-, Gerste- und Roggenkörner wurden eine Stunde in einem Rührapparat der Auslaugung mit Wasser überlassen. Auf einen Teil Mehl kamen 4 Teile Wasser. Mit den so hergestellten und filtrierten Extrakten wurde versucht, die Maltose bei 45° zu hydrolysieren. Nach 22 stündiger Einwirkung wurde die Zersetzung des Sub-

strates nach der Osazonmethode ermittelt; die erhaltenen Osazonniederschläge wurden auch einer mikroskopischen Prüfung unterworfen. In Anbetracht der in den Getreidesamen schon vorhandenen Glucose wurden Kontrollversuche mit Wasser als Substrat ausgeführt.

50 ccm der 0,9 %igen Maltoselösung wurden mit 1 ccm der Formaldehydlösung (4 %ige) und mit 25 ccm des Auszuges versetzt. Ebenso wurden 50 ccm reinen Wassers mit denselben Mengen der Formaldehydlösung und des Auszuges angesetzt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in vorstehender Tabelle zur Anschauung gebracht.

Der Roggenmehlauszug gelangte nicht zur Untersuchung, denn er ließ sich in keiner Weise klar filtrieren.

Aus den obigen Versuchszahlen ergibt sich, daß die Getreidearten der ersten Gruppe keine Maltase an Wasser abgeben. Es ist jetzt leicht verständlich, warum man in den gewöhnlichen, d. i. in den Getreidesorten der ersten Gruppe dieses Enzym nicht gefunden hatte.

Die der zweiten Gruppe dagegen geben an Wasser kleine Maltasemengen ab.

Die geringe Löslichkeit der Maltase macht es nötig, das entsprechende Getreidemehl selbst als enzymatisches Agens anzuwenden.

Von Anfang an war es uns klar, daß bei solcher Art der Enzymwirkung die Größe der Berührungsfläche der Mehlteilchen mit der Substratlösung eine wichtige Rolle spielt. Dies bestätigt folgender Versuch mit Buchweizen.

Drei Proben desselben Buchweizens wurden in einer Maerckerschen Mühle so zerkleinert, daß die Teilchen der ersten Probe die 2-mm-Siebmaschen, die Teilchen der zweiten Probe die 0,5-mm-Siebmaschen nicht passierten und daß die Teilchen der dritten Probe schon durch diese letzten Siebmaschen hindurchgingen. Als Substrat diente eine 1,24 %ige Maltoselösung. 50 ccm dieser Lösung wurden mit 0,5 ccm der Formaldehydlösung und 5 g des entsprechenden Buchweizenpräparates versetzt und im rotierenden Schüttelapparat bei 45° der Hydrolyse überlassen. Nach 4 Stunden wurden in je 10 ccm der filtrierten Lösungen die Mengen der gebildeten Glucose

mittels der Osazonbildung ermittelt. Die Resultate waren folgende:

Größe der Mehlteilchen	Erhalten Glucosazon mg
unterhalb 0,5 mm	37,4
oberhalb 0,5 mm	28,0
oberhalb 2 mm	6,0

Es ergab sich, daß das feinste Mehl enzymatisch am intensivsten eingewirkt hatte.

Die Phosphatide des Herzens und anderer Organe.

Von

Hugh Mac Lean.

(Aus dem Chemisch-Pathologischen Institut des St. Thomas-Hospitals, London.)

(Eingegangen am 24. September 1913.)

Die Gewinnung der in tierischen Geweben vorhandenen verschiedenen Phosphatide in reinem Zustande ist das Ziel vieler Untersuchungen gewesen. Sehen wir aber die neuere Literatur über diesen Gegenstand genauer durch, so fällt uns bald deutlich auf, daß unser Wissen über diese so wichtigen Stoffe keineswegs abgeschlossen ist.

Die äußerst labile Natur der Phosphatide und der Umstand, daß sie leicht löslich ineinander sind, erschwert ihre Trennung ungemein, so daß es mehr als zweifelhaft erscheint, ob die für Lecithin[1]) angenommene Formel wirklich die aus den Geweben stammende Substanz darstellt, die man gemeinhin so nennt.

In der vorliegenden Arbeit werden einige Versuche mitgeteilt, die das Problem der Extraktion und der Reinigung der Gewebsphosphatide bis zu einem gewissen Grade vereinfachen sollen.

In allen älteren Methoden der Phosphatidgewinnung wurden die Gewebe gründlich mit Alkohol und Äther extrahiert und der resultierende Extrakt gereinigt. Die auf solchem Wege erhaltene Hauptsubstanz wurde allgemein als ein chemisch einheitlicher Stoff angesprochen und „Lecithin" genannt. Neuere Forschungen haben jedoch ergeben, daß wir in dem sog. Lecithin in Wirklichkeit ein Gemisch verschiedener Phosphatide vor uns hatten. Somit verlieren für praktische Zwecke viele

[1]) In dieser Arbeit bezeichnet „Lecithin" im gewöhnlich gebrauchten Sinne die in Alkohol und ätherlösliche Substanz mit dem N : P-Verhältnis 1 : 1.

der Analysen älteren Datums ihren Wert. Erlandsen[1]) hat in einer wertvollen Arbeit nachgewiesen, daß der Herzmuskel neben Lecithin einen anderen Stoff enthält, nämlich das Cuorin. Zugleich hat er die Tatsache mit Nachdruck hervorgehoben, daß der vorher getrocknete und zu Pulver zerriebene Muskel bei der Ätherextraktion nur einen Teil seiner Phosphatide hergab und daß der restierende (in Äther leicht lösliche) erst nach Behandlung mit Alkohol ausgezogen werden konnte. Das Ätherphosphatid bestand zum größten Teil aus Lecithin mit einem N:P-Verhältnis 1:1; der Alkoholauszug enthielt dagegen kein Lecithin, sondern eine Substanz, deren N:P-Verhältnis 2:1 betrug.

Angenommen, daß diese Beobachtung Erlandsens richtig ist, so müßte in allen den Fällen, in denen Alkohol zur Extraktion ohne vorherige gründliche Ausätherung benutzt wurde, die gewonnene Substanz ein Gemisch der verschiedenen Phosphatide gewesen sein, die zu isolieren fast unmöglich wäre.

Vor einiger Zeit fand ich, daß das Phosphatid des alkoholischen Pferdenierenextrakts viel mehr Stickstoff aufwies als der primäre Ätherauszug, doch schwankte die Menge beträchtlich in verschiedenen Versuchen. In letzter Zeit habe ich eine Methode zur Behandlung des alkoholischen Extrakts ausgearbeitet, mit deren Hilfe dieser Überschuß an Stickstoff entfernt wird und so den Nachweis ermöglichte, daß das vorliegende Phosphatid ein Lecithin (N:P = 1:1) mit allen Eigenschaften desjenigen im Ätherextrakt war. Ähnliche Resultate wurden mit Pferdefleisch erzielt[2]). Da aber Erlandsen mit Ochsenherzmuskel arbeitete, der von Pferdenieren in dieser Beziehung wesentlich abweichen kann, so habe ich meine Ergebnisse auch an Ochsenherzen nachgeprüft. Der Untersuchungsgang gestaltete sich folgendermaßen: Der Herzmuskel wurde fein zerhackt und bei 30° mit Flügelventilator getrocknet, dann in einer Kaffeemühle zu Pulver gemahlen und mit Äther so lange extrahiert, bis kein Phosphatid mehr erschien. Hierauf erfolgte Behandlung mit Alkohol; letzterer wurde unter vermindertem Druck bei 40° verdampft, der Extrakt der Reinigung unterzogen und die Cadmiumchloridverbindung nach der

[1]) Erlandsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 71, 1907.
[2]) Mac Lean, Biochem. Journ. 6, 333 und 335, 1912.

von Erlandsen angegebenen Methode behandelt. Die Analyse der Substanz vor dem Cadmiumchloridzusatz ergab einen Gehalt von ca. 3% Phosphor und 4,2% Stickstoff. Das N : P-Verhältnis betrug in der Cadmiumchloridverbindung 2,2 : 1, zeigte also eine große Übereinstimmung mit dem von Erlandsen erhobenen Befunde. Nach der unten beschriebenen Reinigung wurde aber konstatiert, daß die Substanz aus einem Phosphatid mit dem N : P-Verhältnis von 1 : 1 bestand und alle üblichen Eigenschaften des Ätherextraktlecithins besaß. Die von mir angewandte Methode zur Reinigung des Phosphatidgemisches war folgende.

Reinigung von Phosphatiden aus alkoholischem Extrakt.

Das noch verunreinigte Phosphatid wurde nach der oben angegebenen Vorbehandlung gründlich in Wasser aufgeschwemmt. Das geschieht am besten in einem Mörser in der Weise, daß man erst den Stoff in einer kleinen Alkoholmenge auflöst, dann sehr wenig Wasser zusetzt und das Ganze gut miteinander vermischt. Nach und nach fügt man mehr Wasser hinzu unter gleichzeitigem gehörigen Durchschütteln der Flüssigkeit. Geht man vorsichtig bei dieser Prodezur vor, so bildet sich eine sehr feine, einer kolloidalen Lösung ähnliche Emulsion; je dünner diese Aufschwemmung, desto bessere Resultate sind zu erwarten. Jetzt setzt man etwas Aceton hinzu, worauf das kolloidale Lecithin sofort in Form von großen flockigen Massen an die Oberfläche der Flüssigkeit steigt und abgeschöpft oder durch Filtration abgesondert werden kann. Damit das Lecithin sich nach dem Acetonzusatz gut abscheidet, ist die Gegenwart eines Salzes, z. B. Natriumchlorid, notwendig — dieses ist ja meistens schon in der Substanz in genügender Menge vorhanden, doch ist es empfehlenswert, nach wiederholter Reinigung eine Spur dem zur Emulsion zu verwendenden Wasser hinzuzufügen. Zur Erlangung einer völlig reinen Verbindung muß dieses Verfahren 3 oder 4 mal ausgeführt werden, wobei die vorhandenen Beimischungen in der Wasseracetonlösung verbleiben. Für die zu benutzende Acetonmenge können wir kein Fixum angeben, sie ist aber gewöhnlich wesentlich kleiner als das zur Emulsioniernng nötige Wasservolumen. Die Trennung der Phosphatide mittels dieser Methode ist nicht quantitativ,

doch ist bei einiger Sorgfalt der durch das in Lösung bleibende Lecithin bedingte Verlust verhältnismäßig gering. Das Lecithin wird, nachdem vollständige Fällung zustande gekommen, mit Aceton getrocknet, in Äther aufgelöst, durch Aceton gefällt und schließlich über Schwefelsäure im Exsiccator getrocknet.

Versuche mit Herzmuskel.

a) Ätherextrakt.

Herzmuskel wurde in so frischem Zustande wie möglich, zerhackt und getrocknet. Das so erhaltene Pulver wog 655 g. Dieses wurde 8 Tage lang mit ungefähr 2 l Äther jedesmal unter Zuhilfenahme einer Schüttelmaschine extrahiert. Nachher wurde der Äther alle 2 Tage erneuert, bis nach Verdampfen nur noch ein sehr kleiner Rückstand resultierte. Dann Auspressen des Äthers mittels einer Handpresse aus dem Pulver und Ausziehen von letzterem mit Alkohol. Der Ätherextrakt lieferte nach der gemäß der Vorschrift von Erlandsen vorgenommenen Reinigung Lecithin und Cuorin vermischt mit einer Spur einer weißen Substanz, die in einigen Eigenschaften derjenigen von Stern und Thierfelder[1]) beschriebenen und von ihnen benannten „weißen Substanz" ähnelte.

b) Alkoholischer Extrakt nach Äther-Behandlung.

Nach Verdampfung des Alkohols wurde der Rückstand mit Äther extrahiert. Ein Teil erwies sich in diesem Lösungsmittel unlöslich und blieb als eine Art Sirup am Boden des Kolbens liegen. Die klare, obere Flüssigkeit wurde abgegossen und mit einem Überschuß von Aceton behandelt. Diese Acetonfällung wurde 3mal vorgenommen. Das jetzt gewonnene Präcipitat wurde abermals in Alkohol aufgelöst, filtriert, der Alkohol verdampft, der Rückstand in einem kleinen Quantum Äther gelöst und durch Aceton zur Fällung gebracht, wodurch Fette, Fettsäuren und Cholesterol entfernt wurden. Nun wurde der Niederschlag in der schon angegebenen Weise in Wasser aufgeschwemmt.

Die so erhaltene Substanz war in allen Lösungsmitteln für Lecithin löslich und zeigte alle die diesem eigenen Merkmale. Die Analyse ergab folgende quantitative Zusammensetzung:

---

[1]) Stern und Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **58**, 379, 1907.

Stickstoff.

$$\left.\begin{array}{lll} 0{,}3758\ g = 5{,}0 & ccm^n/_{10}\text{-}H_2SO_4 & 1{,}86 \\ 0{,}4859\ g = 6{,}7 & \text{„} \quad\ \text{„} & 1{,}93 \end{array}\right\} 1{,}89\,\%\ N.$$

Phosphor.

$$0{,}2529\ g = 18{,}65\ ccm\ NaOH = 4{,}08\,\%\ P$$
$$N : P = 1{,}02 : 1.$$

Diese Zahlen beweisen, daß das Diaminomonophosphatid der in Alkohol löslichen Herzlecithinfraktion, die Erlandsen beschreibt, in Wirklichkeit ein mit Stickstoffbeimischungen verunreinigtes Lecithin ist. Die in Aceton unlöslichen Phosphatide im Herzmuskel sind also Lecithin und Cuorin.

Die Trennung dieser Substanzen kann folgendermaßen geschehen:

Ätherextrakt { Lecithin, Cuorin, Spur „weiße Substanz“ [1]),

daran anschließend

Alkoholextrakt { Lecithin.

c) Extraktion mit Alkohol allein.

Die obigen Ergebnisse erbringen den Beweis, daß primäre Ätherextraktion beim Herzmuskel unnötig ist. Um Gewißheit darüber zu erlangen, ob direkte Behandlung des getrockneten Herzmuskels mit Alkohol brauchbare Resultate liefert, wurden einige Versuche in dieser Richtung ausgeführt. Das Material wurde zerhackt, wie vorher getrocknet und mehrere Male mit Alkohol erschöpft. Aus den vereinigten Extrakten wurde dieser bei 38 bis 40° unter vermindertem Druck verdampft und der Rückstand mit Äther extrahiert. Ein kleiner Bruchteil blieb ungelöst, während die Ätherlösung stark opalescierte und erst nach dem Zentrifugieren sich klärte. Das Phosphatid wurde durch überschüssigen Acetonzusatz zur Ätherlösung niedergerissen. Auflösung des Präcipitats in Äther und wiederholte Fällung mit Aceton bewirkte Befreiung von Fett- und Cholesterolspuren. Die Hälfte des Niederschlags löste man in einer sehr geringen Äthermenge auf und ließ sie nach reichlichem Alkoholzusatz in einem geschlossenen Gefäß über Nacht stehen. Nach Abfiltrieren

[1]) Stern und Thierfelder, l. c.

wurde der Alkoholäther wie vorher verdampft, der Niederschlag mit Aceton behandelt, wonach sich eine plastische Substanz bildete. Diese wurde in der schon beschriebenen Weise dreimal mit Wasser und Aceton gereinigt, schließlich mit Aceton durchgeknetet und im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Sie wies alle Charakteristika des Lecithins und folgende quantitativen Verhältnisse auf:

0,8058 g	verbrauchten	10,15 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4	= 1,76 %	im Mittel
0,7331 g	„	9,35 „	„ 1,79 %	1,775 % N
0,4109 g	„	30,35 „	$^n/_2$-NaOH = 4,09 %	im Mittel
0,3363 g	„	24,5 „	„ 4,04 %	4,06 % P

N : P = 1 : 1,03.

Die zweite Probe alkoholischen Herzextraktes, die ebenso behandelt, aber nur zweimal gereinigt worden war, ergab:

Stickstoff 1. 1,78 %
2. 1,76 % } Mittel 1,77 % N

Phosphor 1. 3,95 %
2. 4,00 % } Mittel 3,97 % P

N : P = 1 : 1,01.

Diese Resultate lassen keinen Zweifel darüber, daß die aus dem Alkoholextrakt gewonnene Substanz dieselbe ist, wie die im Ätherextrakt, d. h. Lecithin, und daß dieses den Hauptbestandteil des Herzphosphatids bildet. Ebenso besteht in den Pferdenieren und dem quergestreiften Muskel das in Alkohol lösliche Phosphatid aus Lecithin, wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, welche die Ergebnisse verschiedener Versuche vergleichend aufführt.

	Herz (Ochse)		Niere (Pferd)		Muskel (Pferd)	
	N %	P %	N %	P %	N %	P %
Lecithin aus 1. Ätherextrakt	1,82	4,02	1,90	4,10	1,90	4,00
Lecithin aus Alkoholextrakt nach vorhergehender Ätherbehandlung	1,89	4,08	1,97	4,07	1,85	3,94
Lecithin aus Alkoholextrakt ohne vorhergehende Ätherbehandlung	1,77	4,06	2,00	4,10	1,90	3,87

Ähnliche Resultate sind bei Versuchen mit Eilecithin erhalten worden.

Über den durch die Reinigung verursachten Lecithinverlust.

Eine gewisse Phosphatidmenge geht während des Reinigungsprozesses verloren, doch kann mit einiger Vorsicht das ursprünglich vorhandene Lecithin fast quantitativ wieder erlangt werden. In einem Versuch wurden 3,98 g gereinigtes Lecithin benutzt und in der üblichen Weise mit 100 ccm Wasser emulsioniert. Nach Acetonzusatz schied sich das Lecithin ab und konnte abfiltriert werden. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingedampft und der Niederschlag, bis sich konstantes Gewicht eingestellt, im Exsiccator getrocknet. Die Emulsionierung und Fällung werden zweimal wiederholt. Das Gewicht des Wasseracetonbodensatzes betrug 0,35 g, die Lecithinausbeute 3,64 g.

Die wasserlöslichen Beimengungen.

Im alkoholischen Rohauszug eines Organs schwankt die Menge der wasserlöslichen Beimengungen ungefähr je nach der vorhergehenden Reinigungsstufe des Substrats. In einem Falle wurden aus 10,48 g Auszug 6,82 g Lecithin gewonnen. Die verschiedenen Acetonwasserfiltrate enthielten während des Reinigungsfiltrates die folgenden Rückstandsmengen:

Erstes	Aceton-Wasserfiltrat	enthielt	2,55 g
Zweites	„	„	0,49 g
Drittes	„	„	0,30 g
			3,34 g

In diesem Falle konnten von den ursprünglichen 10,48 g nur 10,16 g in Rechnung gezogen werden. Die wasserlösliche Substanz erscheint nach Verdampfen der Wasser-Acetonmischung als eine dicke und sirupartige Masse, die in Äther gar nicht, in Alkohol, eine Spur Feuchtigkeit enthaltend, leicht löslich ist. In ganz wasserfreiem Alkohol ist sie praktisch unlöslich, leicht angefeuchtet geht sie schnell in Lösung über. Ätherzusatz zur Alkohollösung erzeugt ein weißes flockiges Präcipitat, das bald Adhäsion zeigt und in eine braune, an die Gefäßwandungen anhaftende Masse übergeht. Dagegen ist es in einer ätherischen Lecithinlösung ziemlich leicht löslich. Daraus geht klar hervor, daß zur Trennung dieses Stoffes von Lecithin Äther ein unbrauchbares Lösungsmittel ist. Aceton fällt ihn aus der Alkohollösung aus. In Wasser löst er sich

außerordentlich leicht und bildet Niederschläge nach Quecksilberchloridzusatz wie mit den gewöhnlichen Reagenzien zur Fällung von Basen. Wie Lecithin wird es durch Cadmiumchlorid ausgefällt. Die N-Menge ist nicht konstant und beträgt durchschnittlich 6 bis 7%, während der Phosphorgehalt gewöhnlich zwischen 0,5 bis 1% liegt. Läßt man eine konzentrierte wässerige Substanz einige Tage stehen, so bildet sich ein Präcipitat von kleinen, weißen, runden Körnchen. Diese sind in kaltem Wasser unlöslich, gehen aber bei Erhitzung leicht in Lösung über und scheiden sich beim Erkalten wieder ab. Was die Löslichkeit anbetrifft, so ist diese weiße Substanz unlöslich in Äther und Petroleum, sowohl in heißem wie in kaltem, wenig löslich in kaltem Alkohol, etwas mehr in erhitztem. Chloroform und Benzin vermögen sie gar nicht zu lösen, kaltes Wasser wirkt wenig, heißes dagegen prompt lösend, aus dem sie beim Abkühlen sich wieder abscheidet. Durch Erhitzen nimmt die gereinigte Substanz bei ca. 230°, eine andere Farbe an und verkohlt bei 240°. Quecksilbernitrat oder neutrales Bleiacetat bewirken keine Fällung, diese tritt ein unter Einwirkung von basischem Bleiacetat und auch von Quecksilberchlorid. Silbernitrat erzeugt einen weißen flockigen Niederschlag, der sich in Ammoniak und Salpetersäure nicht löst.

Nach Kjeldahls Methode verbrauchten 0,0563 g
11,48 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 = 28,55% N.

Diese Substanz kann somit sowohl auf Grund ihres allgemeinen Verhaltens wie ihres N-Gehalts als Carnin identifiziert werden (Carnin = 28,6% N). Nach Abtrennung des Carnins von der wasserlöslichen Substanz wurde der Rückstand in verschiedener Weise zwecks Reinigung behandelt, jedoch bisher mit negativem Erfolge. Er enthält Kreatin und eine kleine Menge Kreatinin (das wahrscheinlich im Verlauf der mehrfachen Eingriffe ein Abbauprodukt des Kreatins ist). Fast alle Proben wiesen, welches auch der Reinigungsmodus gewesen sein mag, ein gewisses Quantum Phosphor auf, nur in einem Falle entstand nach einer vorläufigen Behandlung mit Quecksilberchlorid eine absolut phosphorfreie Substanz mit einem Gehalt an N von 6,11%. Hier hatten wir es also offenbar mit keinem Phosphatid zu tun. Nach Hydrolyse liefert sie, jedoch in geringer Menge, Fettsäuren. Da alle untersuchten Proben etwas Phosphor ent-

halten, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß diese Fettsäuren von Spuren umgewandelten Lecithins herrühren, das infolge von Oxydation in Wasser löslich geworden war. Auch ist eine basische, in Alkohol lösliche und durch Platinchlorid fällbare Substanz in dem Gemisch vorhanden. Der Umstand, daß dieser N-haltige Stoff in allen bis jetzt untersuchten Fällen mit Lecithin zugleich auftritt, weist deutlich darauf hin, daß das N : P-Verhältnis in einem Phosphatid kein Indicator für seine Reinheit ist. Denn es leuchtet ein, daß solche verschiedenen Verhältniszahlen für N : P wie 2 : 1 oder 3 : 1 je nach der proportionalen Menge der vorhandenen Beimischung erhalten werden können. Da die Substanz eine in Alkohol unlösliche Cadmiumchloridverbindung bildet, so ist es sehr wahrscheinlich, daß gewisse isolierte Verbindungen, wie die Cadmiumchloridverbindungen, die unter neuen Namen als neue Stoffe angesehen wurden, in vielen Fällen nichts anderes als Gemische dieser Substanz mit Lecithin sind. Ich bin augenblicklich mit der Erforschung dieser Frage beschäftigt und benütze dabei die hier angewandte Reinigungsmethode.

Über die Gegenwart eines Diaminomonophosphatids im Herzmuskel.

Dunham und Jacobson[1]) haben aus Ochsennieren eine Substanz gewonnen, die sie Carnaubon benannten. Dieses war ein weißes Pulver und nach Meinung der Entdecker ein Triaminomonophosphatid. Späterhin konnte ich[2]) aus Pferdenieren einen in bezug auf seine physikalischen und chemischen Eigenschaften identischen Stoff isolieren, dessen N : P-Verhältnis aber 2 : 1 betrug. Er war in dem ersten Ätherauszug der Nieren enthalten. Nachdem der Äther teilweise verdampft war, wurden die noch vorhandenen Phosphatide durch Aceton niedergeschlagen. Nach Wiederauflösung dieses Präcipitats in einer kleinen Äthermenge bildete sich eine stark opelescierende Lösung. Dann wurde zentrifugiert und dadurch ein Rückstand erhalten, der, wiederholt aus heißem Alkohol umkrystallisiert, die reine Substanz lieferte. Sie ist ein weißes, geschmack- und geruchloses

[1]) Dunham und Jacobson, Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 303, 1910.
[2]) Mac Lean, l. c.

Pulver, das sich nicht leicht oxydiert und sich, auch wenn es beträchtliche Zeit an der Luft steht, in keiner Beziehung verändert. Unlöslich in kaltem Äther und fast unlöslich in erhitztem. Es löst sich leicht in heißem Alkohol und scheidet sich beim Erkalten ab. In Aceton ist es ganz unlöslich, heißer Methylalkohol bringt es in Lösung. In Chloroform, Pyridin, Benzin und Eisessig löst es sich bei der gewöhnlichen Temperatur, leichter bei erhöhter. Hydrolysiert man mit schwacher Salzsäure, so erhält man eine geringe Menge einer Substanz, die Fehlingsche Lösung reduziert. Fällungsmittel sind Cadmiumchlorid, Platinchlorid und Bleiacetat.

Stoffe dieser Art sind zuerst von Thudichum[1]) beschrieben worden, der aus dem Gehirn drei Verbindungen isolierte, die er Apomyelin, Sphingomyelin und Amidomyelin nannte. Einige Zeit darauf gelang es Stern und Thierfelder[2]), eine Substanz mit ähnlichen Eigenschaften aus dem Eigelb zu isolieren. Während relativ große Mengen dieser Substanz sich auch in Pferdenieren finden, war es mir erst nicht möglich, sie mit Sicherheit im Herzmuskel des Ochsen nachzuweisen. Von Zeit zu Zeit konnte man Spuren dieses Stoffes fassen, die aber wegen ihrer minimalen Menge für eine chemische Analyse nicht in Betracht kamen, und das mir zur Verfügung stehende Material war auch nicht groß genug, um eine zur Identifizierung nötige Ausbeute zu liefern. Vor kurzem aber gelangte ich durch einen günstigen Zufall in den Besitz der gewünschten Mengen. Ein Kollege, Herr E. A. Cooper aus dem Lister Institut, der eine sehr große Anzahl von Ochsennieren zu einem anderen Versuchszweck verarbeitete und sie mit Alkohol bei 40 bis 45° extrahierte, überließ mir freundlichst den aus diesem Extrakt durch Abkühlung gewonnenen Niederschlag. Die Aufarbeitung dieses Materials ergab eine kleine Menge, ca. 0,3 g, die von folgender Konstitution war:

0,0822 g verbrauchten 1,8 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 3,07% N,
0,0763 g „ 4,7 ccm $^n/_2$-NaOH 3,41% P.
N : P = 2 : 1.

Die Zusammensetzung dieser Substanz ist den schon früher isolierten ähnlich, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist.

[1]) Thudichum, „Physiological Chemistry of the Brain". London 1884.
[2]) Stern und Thierfelder, l. c.

Substanz aus Pferdeniere (Mac Lean) %	Substanz aus Eigelb (Thierfelder) %	Substanz aus Gehirn (Thudichum) Apomyelin %	Sphingomyelin %	Substanz aus Ochsenniere (Dunham und Jacobson) %
N 3,00 P 3,44	2,77 3,22	3,00 3,23	2,96 3,24	2,84 2,18
N : P 1,93 : 1	1,90 : 1	2,0 : 1	2,0 : 1	2,9 : 1

Ein Vergleich des Schmelzpunktes der Herz- und Nierensubstanz bekräftigte stark die Ansicht, daß diese beiden Substanzen miteinander identisch waren. So schmolz die Nierenverbindung bei 182 bis 183°, die Herzsubstanz bei 184 bis 185°. Ein Gemisch beider schmolz bei 183 bis 184°. Ein sehr merkwürdiges Verhalten zeigte diese Substanz insofern, als sie nach der ersten Alkoholextraktion leicht löslich in heißem Äther wurde, aus dem sie sich nach dem Erkalten abschied. Nach abermaligem Erhitzen mit Äther kam aber keine Lösung mehr zustande, so daß ihre Löslichkeit infolge Erhitzung mit Äther eine Änderung erfahren haben mußte.

Zusammenfassung.

Es ist durchaus unnötig, Herzgewebe erst mit Äther und dann mit Alkohol zu extrahieren, da das Phosphatid (Lecithin) aus dem Ätherextrakt dasselbe wie in dem Alkoholauszug ist. Dasselbe trifft auch für die Niere und den quergestreiften Muskel zu. Das durch Alkohol extrahierte Lecithin enthält eine N-haltige Beimengung, die sich leicht in Lecithin löst und die nicht durch die üblichen Prozesse: Lösung in Äther, Fällung durch Alkohol usw. abgetrennt werden kann. Man erhält das Lecithin leicht in reinem Zustande, unvermengt mit dieser Substanz, indem man den Rohauszug in Wasser aufschwemmt und etwas Aceton hinzufügt. Das Lecithin scheidet sich aus, die Beimengungen verbleiben in der Lösung. Außer Lecithin und Cuorin enthält der Herzmuskel eine Spur eines Diaminomonophosphatids, das den von Stern und Thierfelder und von Thudichum beschriebenen Substanzen ähnelt. Eine analoge Verbindung ist aus Nieren von Dunham und Jacobson und vom Verfasser dargestellt worden. Die im Herzmuskel sehr gering vorhandene Menge ist vielleicht in der nervösen Struktur des Herzens begründet.

Beitrag zum Kohlenstoffumsatz.

Über den physiopathologischen Wert des labilen Harnkohlenstoffs.

Von

Enrico Reale.

(Aus der I. medizinischen Klinik der Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 14. Oktober 1913.)

Es ist bekannt, daß etwas weniger als die Hälfte des Harnkohlenstoffs vom Harnstoff, dem Endprodukt des Eiweißstoffwechsels, herrührt, und daß der Rest des Kohlenstoffs an Körper verschiedener Natur und Zusammensetzung, stickstoffhaltigen und nicht stickstoffhaltigen, und nur zum Teil bekannten, gebunden ist.

In den von mir im vergangenen Jahre an gesunden Personen und bei gemischter Kost gemachten Experimenten[1]) fand ich durchschnittlich 10,611 g C gegenüber 14,217 g N; also ein Verhältnis des C zum N $\left(\text{Quotient } \frac{C}{N}\right)$ gleich 0,74. Bei gewöhnlichen physiologischen Bedingungen und Kost findet man bei uns durchschnittlich im Harn 74 p. C auf 100 N an. Dieses Durchschnittsverhältnis kann als exakt genug betrachtet werden, da es mit dem von mir an einer gesunden Person (Alter 24 Jahre, Körpergewicht 59 kg) gemachten Experiment, während einer Periode, in der sie sich im Stickstoffgleichgewicht befand, übereinstimmte. In diesem Falle betrug der Kohlenstoff in bezug auf den Stickstoff 74,62 %. Solch eine Beobachtung verdient besonders hervorgehoben zu werden, weil es mir bis jetzt noch nicht gelungen ist, in der Literatur über den Harnkohlenstoffwechsel andere Beispiele von Versuchen an Personen mit Stickstoffgleichgewicht, der einzigen Bedingung für diese

[1]) Diese Zeitschr. 47, Heft 5, 1912.

Experimente, d. h. einer richtigen und rationellen Proportion zwischen den Bestandteilen der Kost (stickstoffhaltige Nahrung, Fette und Kohlenhydrate), zu finden.

Was nun das Verhältnis des Harnstoff-C zu dem übrigen Kohlenstoff betrifft, so fand ich in den an Personen mit Stickstoffgleichgewicht gemachten Experimenten, daß auf 14,617 g Gesamtstickstoff 11,992 g dem Harnstoff angehören, der daher gleich 25,66 betrug; der dieser Harnstoffmenge entsprechende C ist gleich 5,1326, oder auch 47% des Gesamtkohlenstoffs; es ergibt sich also daraus, daß 53% des C bei diesem Individuum in chemischen, nicht vollständig vom organischen Metabolismus verarbeiteten Verbindungsformen ausgeschieden wurden.

Die bedeutende Divergenz zwischen dem vermittels der Harnanalysen gefundenen Quotienten $\frac{C}{N}$ und dem, was man auf Grund der chemischen Beschaffenheit der wichtigsten und reichlichsten Komponente im Harn, dem Harnstoff (bei dem der Quotient selbst sich nur 0,43 näherte), erwarten müßte, wurde vor allem von Voit hervorgehoben; aber das Verdienst, uns gezeigt zu haben, daß das Übermaß des Harnkohlenstoffs, weit davon entfernt, ausschließlich vom Eiweiß herzurühren, in vorwiegender Weise seinen Ursprung in den Fetten und Kohlenhydraten, vor allen Dingen letzteren, hat, gebührt Meißl, Pflüger, Spiro usw.

Wie ich schon in meiner vorhergehenden Arbeit sagte, führen auch meine Untersuchungen an Individuen im Stickstoffgleichgewicht und diejenigen über die Verhältnisse zwischen dem Quotienten $\frac{C}{N}$ und der, aus dem Harn unter Einfluß verschiedener Nahrungsmittel, ausgeschiedenen Schwefel- und Phosphormenge zu derselben Schlußfolgerung. Ich habe nun in diesem Jahre das Studium über den Kohlenstoffwechsel, und jener von mir mit labilem C betitelten Fraktion des Harnkohlenstoffs, fortgesetzt; d. h. derjenigen Menge, deren C nicht vom Harnstoff abstammt, sich von Wasserstoffsuperoxyd angreifen und daher vom übrigen C scharf unterscheiden läßt und der sich nur vermittels vollständiger Verbrennung des Harns oxydiert (stabiler C). Ich will kurz einige von mir erhaltenen Resultate angeben.

Einfluß der Kost und der Glucosezufuhr auf den Quotienten $\frac{C}{N}$.

In diesen Forschungen wurde hauptsächlich geprüft, wie sich der Gesamtkohlenstoff des Harns und sein Verhältnis zum Stickstoff bei Verabreichung von Glucose verhält. Um jeden anderen Einfluß, der auf den Kohlenstoffwechsel umstimmend wirken könnte, zu vermeiden, hielt ich es für notwendig, während der ersten Periode der Experimente die Glucoseausscheidung nur während einer Tageszeit, und zwar derjenigen von 6 bis 12 Uhr, die als Fastenperiode angesehen werden kann, zu studieren.

Vor allem wurde die Person einer determinierten Kost unterworfen: am dritten Tage um 8 Uhr früh nahm sie den Traubenzucker (1 g auf jedes Kilogramm des Körpergewichts); der zwischen 6 und 12 Uhr ausgeschiedene Harn wurde auf seinen C- und N-Gehalt und den Quotienten $\frac{C}{N}$ hin untersucht. Am folgenden Tage (ebenfalls um 8 Uhr) verabreichte man nur diejenige Wassermenge, die am vorhergehenden Tage als Aufnahmeflüssigkeit des Zuckers diente; der Harn wurde gesammelt und in derselben Weise geprüft. Es versteht sich von selbst, daß nach der Hauptmahlzeit des Tages (6 Uhr nachmittags) weder andere Nahrung noch Getränk genommen wurden, man also 14 Stunden (bis 8 Uhr morgens) Enthaltsamkeit von jeglicher Kost rechnen konnte.

Aus den auf der ersten Tabelle zusammengestellten Resultaten dieser Untersuchungen ersieht man, daß vermittels Glucoseverabreichung die Kohlenstoffmenge gegenüber dem Stickstoff beständig wächst. So haben wir beim ersten Experiment 14,62 g C mehr auf 100 g N, im zweiten 13,71 g, im dritten 5,52 g, also durchschnittlich 11,28 g mehr.

Außer dem Verhalten des Harnkohlenstoffs infolge der Traubenzuckerverabreichung studierte ich auch im verflossenen Jahre den Einfluß des Brotes und der Fette auf den C. Zu diesem Zwecke erhielt eine der Personen (Krankenwärter L. S.) beständig eine Kost von 2600 Calorienwert netto (46 pro Kilogramm des Körpergewichts), ca. 117 g Eiweiß enthaltend. Aus den auf der Tabelle II registrierten Resultaten geht her-

vor, daß der verbrennbare Wert und der Eiweißgehalt der Nahrung ziemlich unverändert blieb, aber während einer Periode von 3 Tagen wurden 200 g Brot durch 2 Eier und 44 g Fett ersetzt, und das Durchschnittsverhältnis des C zum N sank sofort von 78,86 auf 73,79 (5,07% weniger) herab, um sofort in der folgenden Periode, wo man zur Darreichung der 200 g Brot zurückkehrte, wieder anzusteigen; tatsächlich steigerte sich dann das Verhältnis bis auf 77,44 (3,65% Erhöhung in bezug auf die Periode der Fettverabreichung) mit der Tendenz, die ursprüngliche Höhe zu erreichen.

Diese Tatsachen beweisen, daß die Kohlenhydrate den Quotienten $\frac{C}{N}$ mehr als die Fette erhöhen.

Einfluß der Nahrungsmittel und Glucosezufuhr auf die Elimination des labilen C.

Viel überzeugender noch sind die während des vergangenen Jahres gemachten Beobachtungen, in denen der Einfluß des Traubenzuckers und der verschiedenen Nährstoffe auf den labilen Kohlenstoff außer demjenigen auf den Gesamt-C von mir studiert wurde[1]).

Einer jungen Frau (M. C., 22 Jahre alt, kleine Statur) wurde während längerer Zeit Nahrung von stets 2572 Calorienwert netto und ca. 133 g Eiweißgehalt verabfolgt (siehe Tabelle III). Der Quotient $\frac{C}{N}$ war ziemlich hoch (durchschnittlich 8242) und die tägliche Durchschnittsmenge des labilen C

[1]) Ich glaube, daß es überflüssig ist, die Technik der Methode zur quantitativen Bestimmung des labilen Harnkohlenstoffs wieder zu erörtern, da ich sie in der vorhergehenden Publikation genau angeführt habe, und nur, um eine größere Exaktheit zu erzielen, mit 20 oder auch 10 ccm Harn arbeitete. Zum besseren Verständnis der Resultate selbst will ich nur hervorheben, daß mit dem von mir ausgeübten Verfahren weder Harnstoff noch eventuell anwesende Glucose angegriffen werden. Also weder das Alpha von den im Organismus zirkulierenden Kohlenhydraten, noch das Omega der Eiweißzersetzungsprodukte; Bedingungen, die den Grund, sozusagen das Daseinsrecht zu dieser Methode bilden, mit der die Menge der zersetzbaren und verbrennbaren Zwischenprodukte des Stoffwechsels durch Wasserstoffsuperoxyd mit Kohlensäureentwicklung individualisiert wird.

betrug 0,6441 g mit einem Verhältnis von 6% zum Gesamtkohlenstoff.

Der in der Quantität von 100 g dargereichte Traubenzucker (von dem sich im Harn keine Spuren fanden), ließ den Quotienten $\frac{C}{N}$ durchschnittlich auf 0,9474 ansteigen (0,1232 mehr) mit einem Maximum an dem der Glucoseverabreichung folgenden Tage, wo der Quotient sogar die Einheit erreichte (0,1828 mehr). An den beiden Tagen, während der also der Einfluß der Glucose stattfindet, nimmt der Kohlenstoff im Verhältnis zum Stickstoff durchschnittlich um 12,32%, mit einem Maximum von 18,28%, zu. Diese Daten bestätigen die früheren angegebenen, die ich durch Bestimmung des Kohlenstoffs des in den Vormittagsstunden ausgeschiedenen Harns vor und während des Einflusses der Traubenzuckerdarreichung erhielt.

Der labile Kohlenstoff steigt sofort infolge der Glucoseverabreichung; das Maximum hat man am selben Tage, an dem die oben erwähnte Durchschnittsmenge (0,6441 g) sich auf 1,512 g erhöht, während man am nächsten Tage innerhalb 24 Stunden nur 1,0494 g findet; der Durchschnitt beträgt also 1,2807 g. Was nun das Verhältnis des labilen C zum Gesamt-C anbetrifft, so ergibt sich aus den Resultaten dieser Beobachtungen, daß der labile C in der der Glucoseverabfolgung vorhergegangenen Periode 6% des Gesamt-C betrug, in der zweiten sich um mehr als das Doppelte (13,70%), mit einem Maximum am Tage der Darreichung (17,47%), erhöhte. Nachdem die 2 Tage verflossen waren, verminderte sich die tägliche Quantität des labilen C und sein prozentisches Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff im Harn unter die ursprünglichen Werte.

Diesen Resultaten will ich jene gegenüberstellen, die ich bei derselben Person bei Verabreichung von 50 g Butter, d. h. einer Fettmenge, die der des Traubenzuckers (die während der vorhergehenden Untersuchung verabfolgt wurde), isodynamisch war, erhielt (siehe Tabelle IV). Es ergibt sich, daß, während der Kohlenstoff sich auch hier erhöht, wenngleich in kleineren Proportionen, in bezug auf den Stickstoff (6,33% durchschnittlich, mit einem Maximum von 7,58% gegenüber den ursprünglichen Werten), die tägliche Quantität des labilen

C dagegen eine bedeutende Verminderung erleidet (durchschnittlich 0,1722); ebenso sinkt das prozentische Verhältnis des labilen C zum Gesamt-C (durchschnittlich 2,50, mit einem Maximum von 3,22).

Also im Gegensatz zu dem, was sich bei Einführung von Glucose offenbart, veranlaßt die Darreichung von Butter eine fühlbare Verminderung des labilen C und sein Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff.

Die Verabfolgung von Fleisch hat ein Sinken des Quotienten $\frac{C}{N}$, sowie auch der täglichen Gesamtkohlenstoffmenge herbeigeführt (Tabelle IV).

Wenn man 400 g Brot durch 320 g Fleisch ersetzt, ist der bei dieser Frau angetroffene Durchschnittsquotient auf die niedrigste Grenze gesunken, d. h. auf 0,7624 (0,0618 weniger in bezug auf die ursprünglichen Werte), während die tägliche Durchschnittsquantität des labilen C auf 0,2351 g sank (0,409 g weniger), und das Verhältnis der beschriebenen Fraktion und dem Gesamtkohlenstoff kaum 2,64 % (3,44 % weniger) erreicht hat. Am 2. Tage der Verabreichung sind die Zahlen so niedrig gewesen, daß sie den Fehlerquellen bei derartigen Untersuchungen eingereiht werden könnten; daher darf man auch annehmen, daß beim Ersatz des Brotes durch Fleisch der labile Kohlenstoff mitunter ganz und gar verschwinden könnte.

Wenn man dagegen zur früheren Kost zurückkehrte, oder besser gesagt zur nächsten Periode des Experiments fortschreitet, d. h. statt der ersetzten 320 g Fleisch wieder 400 g Brot gibt, hat man ein schnelles Ansteigen der Zahlen, die dazu neigen, den ursprünglichen Wert zu erreichen, beobachten können[1]).

[1]) Aus den Tabellen geht auch hervor, daß, wenn der Quotient so ansteigt, daß er sich der Einheit nähert oder sie gar überschreitet, dieses gewöhnlich mit einer verhältnismäßig bedeutenden Erhöhung des labilen C geschieht; wenn man daher die Quantität des letzteren vom Gesamtkohlenstoff (mit dem man den stabilen C erhält) abzieht, neigt oben gesagter Quotient dazu, zum Normalen herabzusteigen. Dieses beweist, daß man dem, wie einige Forscher behaupteten, nicht zustimmen kann, daß beim physiologischen Zustand und einer die Bedürfnisse des Organismus nicht reizenden Kost der Quotient der Einheit sich nähern oder sie überschreiten kann.

Einfluß des Thyreodins auf die Elimination des labilen C.

Ich muß endlich auf den Einfluß des Thyreodins auf den Kohlenstoffwechsel hindeuten. Die Verabfolgung desselben geschah bei dieser Frau vom 7. bis 18. Februar, 2 bis 5 Tabletten von Hofmann-La Roche täglich, von denen jede 0,1 g frischer Schilddrüse entsprach. Die klinischen Symptome des Thyreodismus zeigten sich deutlich unter Formen von Tachykardie (Puls von 80 auf 120), Erhöhung der Zahl der Atemzüge (von 18 bis 20 auf 28 bis 34), Zustände leichter Erregbarkeit, ganz im Gegensatz zu dem gewöhnlichen, sanften und ruhigen Charakter; unbedeutend war dagegen die Steigerung des cardiovascularen Druckes. Am 14. Februar, d. h. 8 Tage nachdem die Behandlung mit Thyreodin begonnen war, wurden tägliche Harnanalysen gemacht, die ein kaum merkbares Sinken des Quotienten $\frac{C}{N}$ in bezug auf die ursprünglichen Werte, dagegen aber eine sehr bedeutende Verminderung der täglichen Durchschnittsquantität des labilen C (0,2657 g oder auch 0,3784 g weniger), und das Verhältnis des C selbst zum Gesamtkohlenstoff (2,76%, mit einer Verminderung von 3,32%) hervortreten ließen.

Der Einfluß des Thyreodins auf den Kohlenstoffwechsel ist bei den infolge erneuter Verabreichung von Glucose erzielten Resultaten noch augenscheinlicher (siehe Tabelle V). Tatsächlich ist in der zweiten Periode des Experimentes trotz der Einführung von 100 g Traubenzucker der Quotient $\frac{C}{N}$ beinahe unverändert geblieben, während die tägliche Quantität des labilen C und das prozentuale Verhältnis desselben zum Gesamt-C sich so wenig erhöht haben, daß sie nicht einmal die ursprünglichen normalen Werte, d. h. jene vor der Glucoseverabfolgung, erreicht haben.

Bei Thyreodingebrauch vermindert sich also bedeutend das prozentuale Verhältnis des C zum N und jenes des labilen Kohlenstoffs zum Gesamtkohlenstoff.

Zusammenfassung.

Vor allem bestätigen diese Forschungen, daß sich der Quotient $\frac{C}{N}$ hauptsächlich beim Gebrauch von Kohlenhydraten

erhöht. Beweisend sind die in der Vormittagsperiode erzielten Resultate. Die Traubenzuckerverabreichung induziert in dieser Fastenperiode eine bedeutende Erhöhung des prozentualen Verhältnisses des Kohlenstoffs zum Stickstoff. Durchschnittlich wurde in den an 3 Personen ausgeführten Versuchen bei Verabreichung von 1 g Traubenzucker auf das Kilogramm des Körpergewichts eine Steigerung von 11,28% mit einem Maximum von 14,62% beobachtet.

Andererseits fand man bei Untersuchungen der täglichen Harnanalyse einer gesunden Person (mit Kost von $37\frac{1}{2}$ Calorienwerten pro Kilogramm des Körpergewichts ernährt) bei Verabreichung von 100 g Glucose eine durchschnittliche Steigerung von 12,32%, mit einem Maximum von 18,28%, während bei Darreichung einer isodynamischen Fettmenge die Durchschnittserhöhung nur 6,33% mit einem Maximum von 7,58% betrug.

Der überwiegende Einfluß der Kohlenhydrate auf die Steigerung des Quotienten $\frac{C}{N}$ ist noch besser in den Experimenten zutage getreten, deren Resultate vermittels der Ergänzung der Fette durch Brot und umgekehrt in verschiedenen Forschungsperioden, in denen man besonders darauf achtete, daß der verbrennbare Wert und Eiweißgehalt der Kost unverändert blieben, gefunden wurden.

Wenn man das Brot durch Fleisch ersetzt, sieht man, daß dadurch das prozentuale Verhältnis des C zum N vermindert wird.

Von noch größerer Wichtigkeit sind die neuen Studien über den Einfluß der Kost und der Traubenzuckerverabfolgung auf die Ausscheidung des labilen Kohlenstoffs. Diese Forschungen zeigen, daß sich der labile C bei Verabfolgung von kohlenhydrathaltiger Nahrung, speziell Traubenzucker, erhöht, sich dagegen bei solcher von Fetten und Fleisch, hauptsächlich letzterem, vermindert.

Bei dem Experiment an einer gesunden Person, wie ich schon erwähnt habe, erhöhte sich die tägliche Durchschnittsmenge des labilen C (0,6441 g) und sein Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff (durchschnittlich 6%) während der Verabfolgungsperiode von 100 g Traubenzucker um das Doppelte. Die höchste Steigerung hatte man am Tage der Glucoseverabreichung

selbst, an dem die labile Kohlenstoffmenge in 24 Stunden auf 1,512 g und das Verhältnis des letzteren zum Gesamt-C 17,47% stieg. Die Verabreichung einer isodynamischen Quantität Fett erzeugte dagegen eine Verminderung des labilen C (der in 24 Stunden auf 0,4709 g sank) und sein Verhältnis zum Gesamt-C (der sich auf 4,58% erniedrigte).

Am 2. Tage hatte man bei Fleischverabfolgung so niedrige Zahlen, daß man das beinahe oder absolute Verschwinden des labilen C annehmen konnte.

Das Thyreodin endlich, das den Quotienten $\frac{C}{N}$ beinahe unverändert läßt, verursachte eine Verminderung der täglichen Durchschnittsmenge des labilen C auf 0,2657 g und das Verhältnis des letzteren zum Gesamt-C auf 2,76%. Sein Einfluß war so entscheidend, daß, als man von neuem 100 g Glucose in dieser Zeitperiode gab, die Steigerung des labilen C während 24 Stunden und sein Verhältnis zum Gesamt-C so gering war, daß die erhaltenen Werte nicht einmal die normalen, vor der ursprünglichen Traubenzuckerverabreichung, erreichten!

Die Hauptschlußfolgerung der Resultate dieser Forschungen über den Kohlenstoffwechsel ist folgende:

Wir wissen, daß der in den Organismus eingeführte Zucker sofort als Thermodynamikmaterial und als Glykogen in der Leber und den Muskeln aufgespeichert ist; wir wissen ferner, daß die Zuckermenge, die man einnimmt, größer ist, als es die Bedürfnisse des Organismus erfordern, daher nicht ganz assimiliert, aber ausgeschieden wird, teilweise sogar unverändert.

Die Glucosurie ist das einzige erkennbare Phänomen des Traubenzuckerüberschusses im Körper, wenigstens in der Praxis, da das Studium des Gasaustausches oder auch der CO_2-Ausscheidung der größten Mehrheit der Forscher nicht zugänglich ist und die Ausscheidung von Glucuronsäure wegen Fehlens einer praktischen und sicheren Methode der quantitativen Bestimmung nicht verwertet werden kann.

Dagegen zeigen diese Experimente, daß, wenn die Einführung von Kohlenhydraten das Bedürfnis übersteigt, besonders wenn der Organismus plötzlich vermittels der Traubenzuckerverabfolgung damit überschwemmt wird, der Harn mit einer mehr oder weniger großen

Menge von dazwischenliegenden Zersetzungsprodukten des Glucosemoleküls überladen ist, die sich durch Wasserstoffsuperoxyd verbrennen lassen und daher mit Genauigkeit durch die quantitative Bestimmung der CO_2, die sich bei ihrer Verbrennung entwickelt, bestimmt werden kann.

Die Quantität dieser Produkte ist nicht gleichgültig. Aus den oben angeführten Zahlen kann man leicht ersehen, daß die einer gesunden Person verabreichten 100 g Glucose die labile Kohlenstoffmenge, während der korrespondierenden Experimentsperiode, um 1,2732 g erhöhten. Da nun der Traubenzucker 40% C enthält, kann man rechnen, daß bei diesem Experiment als unvollständige Verbrennungsprodukte 3,182 g davon ausgeschieden wurden.

Die Tatsache, daß die Elimination des labilen Kohlenstoffs am Verabfolgungstage des Zuckers am fühlbarsten war (0,8679 g mit 2,169 g Traubenzucker entsprechend) stimmt vollständig mit den die Schnelligkeit und Absorbierungsintensität des Traubenzuckers und die Ausscheidung der CO_2 vermittels der Atmungsorgane nach Einverleibung desselben betrachtenden Forschungen überein.

Tatsächlich beweisen die ersten, daß durchschnittlich von 100 g Glucose 50 bis 60 g in der 1. Stunde absorbiert sind und sich nach 3 Stunden im Magen und Darm nur wenige Gramm Traubenzucker befinden (Albertoni).

Was die Ausscheidung der CO_2 anbetrifft, so weiß man, daß sie bis zu einem gewissen Punkte mit der eingeführten Dosis proportional ist und ihre Dauer nicht 6 Stunden übersteigt.

Der Gebrauch des Thyreodins bewirkt bei einer gesunden Person in bedeutendem Grade die Verminderung der täglichen Quantität des labilen Kohlenstoffs und dessen Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff; als Beweis dafür dient, daß, als man die Verabreichung von 100 g Glucose wiederholte, die vorher gefundenen Werte, nicht einmal die während des normalen Zustandes, vor der Traubenzuckerverabreichung gehabten, erreicht wurden!

Ich verfolge die Untersuchungen über die physio-pathologische Bedeutung des labilen Harnkohlenstoffs weiter, da ich glaube, daß die Resultate der bisherigen Untersuchungen diese erste Mitteilung rechtfertigen.

Schwankungen des Gesamtkohlenstoffs im Harn bei gesunden Personen und sein Verhältnis zum Gesamtstickstoff.

Tabelle I.

Einfluß der Glucosezufuhr (1 g auf 1 kg des Körpergewichts).
(Die Glucose ist am ersten Tage jeder Beobachtungsperiode um 8 Uhr morgens verabreicht.)

Zahl der Beobachtungen	Tage der Beobachtungen	Harn: Menge ccm	spez. Gew. (bei 15°)	Gesamt-N g	Gesamt-C g	Quotient C/N	Unterschiede des C/N in den beiden Perioden	Besondere Beobachtungen
I. L. S., 24 Jahre, Körpergew. 59 kg	1. 26. III., 6—12 Uhr	260	1023	3,348	2,352	0,7025	0,1462	Bei dem ersten Experiment ist die Glucose mit nur 2 Löffeln Wasser eingegeben; bei der zweiten u. dritten in 500 resp. 250 ccm Wasser aufgelöst. In dem Harn befand sich niemals Glucose.
	2. 27. III., 6—12 Uhr	470	1016	2,998	1,668	0,5563		
II. G. V., 51 Jahre, Körpergew. 60 kg	1. 30. III., 6—12 Uhr	1000	1009	3,860	2,958	0,7663	0,1371	
	2. 31. III., 6—12 Uhr	650	1016	4,504	4,363	0,6292		
III. G. C., 38 Jahre, Körpergew. 72 kg	1. 3. IV., 6—12 Uhr	615	1018	4,864	3,253	0,6687	0,0552	
	2. 4. IV., 6—12 Uhr	395	1019	2,968	1,821	0,6135		

Tabelle II.

Einfluß von Brot und Fett.

Beobachtungsperioden (jede 3 Tage)	Ernährungsweise	Harn: tägliche Quantität ccm	spez. Gew. (bei 15°)	Stickstoff g	Kohlenstoff g	Quotient C/N	Besondere Bemerkungen
I.	Kost von 2600 Calorien netto pro 1 kg[1])	1103	1023	14,714	11,459	0,7886	Die Untersuchungen bei denselben Personen wie auf der vorhergehenden Tab. I ausgeführt.
II.	Ersetzung von 2 Eiern und 44 g Schmalz durch 200 g Brot[2])	1000	1022	15,781	11,432	0,7379	[1]) 300 g Brot, 200 g Nudeln. 250 g Fleisch. 2 Eier; 1/4 l Wein.
III.	Wie in der I. Periode	1040	1024	15,538	12,067	0,7740	[2]) Der Verbrennungswert und Eiweißgehalt der Kost bleiben unverändert.

Schwankungen des labilen C bei Gesunden und sein Verhältnis zum Gesamt-C und Gesamt-N.

Tabelle III.

Einfluß der Glucosezufuhr (100 g).

(Die Zahlen in schräger Schrift geben die Durchschnittswerte an.)

Beobachtungsperioden	Tage ihrer Dauer	Harn: tägl. Quantum ccm	spez. Gew. (bei 15°)	Stickstoff g	Kohlenstoff gesamt g	Kohlenstoff labil g	Quotient C/N	prozentisches Verhältnis des labilen C zum Gesamt-C	Besondere Bemerkungen
I.	1. (19. I.)	1880	1014	14,7392	12,534	0,4869	0,8505	3,88	Frau von 22 Jahren: Körpergewicht 68 kg; Calorien netto der Kost 37½ pro 1 kg, mit einem Eiweißgehalt von 133 g. Die Glucose ist am 1. und 2. Tage der Beobachtungsperiode um 8 Uhr verabreicht. Im Harn findet man keine Spur.
	2. (20. I.)	1680	1012	12,1128	9,665	0,8010	0,7979	8,28	
		1780	*1013*	*13,4260*	*11,099*	*0,6441*	*0,8242*	*6,08*	
II.	1. (21. I.)	1760	1013	9,4864	8,422	1,5120	0,8878	17,47	
	2. (22. I.)	1400	1018	10,4860	10,556	1,0494	1,0070	9,94	
		1580	*1015*	*9,9862*	*9,489*	*1,2807*	*0,9474*	*13,70*	
III.	1. (23. I.)	1770	1012	9,6640	8,734	0,2650	0,9037	3,03	

Tabelle IV.

Einfluß von Fleisch und Fett.

(Die Zahlen in schräger Schrift geben den Durchschnittswert an.)

Beobachtungsperioden	Tage ihrer Dauer	Harn: tägl. Quantität ccm	spez. Gew. (bei 15°)	Stickstoff g	Kohlenstoff gesamt g	Kohlenstoff labil g	Quotient C/N	prozentisches Verhältnis des labilen C zum Gesamt-C	Besondere Bemerkungen
I.	1. (26. I.)	2075	1010	11,4740	8,8220	0,4240	0,7688	4,80	Die Untersuchungen sind an der Frau (von Tabelle III) ausgeübt.
	2. (27. I.)	1330	1015	12,7547	9,6400	0,0462	0,7560	0,48	
		1902	*1012*	*12,1143*	*9,2310*	*0,2351*	*0,7624*	*2,64*	
II.	1. (29. I.)	1750	1014	12,6170	9,9732	0,5477	0,7904	5,49	Während der I. Periode ersetzt 400 g Brot durch 320 g Fleisch; in der II. wird Brot und die gewöhnliche Fleischquantität (120 g) verabreicht
	2. (30. I.)	1400	1017	11,4660	9,2008	0,4186	0,8093	4,54	
	3. (31. I.)	1960	1014	12,7590	9,7276	0,6679	0,7623	6,86	
		1703	*1015*	*12,2800*	*9,6338*	*0,5447*	*0,7873*	*5,63*	
III.	1. (4. II.)	2300	1011	11,9140	10,3109	0,6585	0,8736	6,38	Während des ersten Tages der III. Periode gibt man 50 g Butter um 8 Uhr morgens.
	2. (5. II.)	1600	1013	10,3040	9,1616	0,4144	0,8891	4,52	
	3. (6. II.)	1620	1017	13,1560	11,8600	0,4709	0,9000	2,86	
		1840	*1013*	*11,7190*	*10,4441*	*0,4709*	*0,8875*	*4,58*	

Tabelle V.

Einfluß des Thyreoidins.

(Die Zahlen in schräger Schrift geben den Durchschnittswert an.)

Beobachtungsperioden	Tage ihrer Dauer	Harn: tägl. Quantität ccm	Harn: spez. Gew. (bei 15°)	Harn: Stickstoff g	Harn: Kohlenstoff gesamt g	Harn: Kohlenstoff labil g	Harn: Quotient C/N	Harn: prozentisches Verhältnis des labilen C zum Gesamt-C	Besondere Bemerkungen
I.	1. (14. II.)	1930	1015	13,1047	10,6576	0,1993	0,8132	1,87	1. Die Frau (von Tabelle III u. IV) wurde vom 7. II. an dem Gebrauche v. Thyreoidin unterworfen.
	2. (15. II.)	1160	1020	11,3880	9,0743	0,3321	0,7968	3,65	
		1545	*1017*	*12,2463*	*9,8609*	*0,2657*	*0,8050*	*2,76*	
II.	1. (16. II.)	2200	1011	11,2420	9,3588	0,5698	0,8324	6,08	Am ersten Tage der II. Periode um 8 Uhr verabreichte man 100 g Glucose. (Vergl. Tabelle III.)
	2. (17. II.)	2100	1014	12,6420	9,4521	0,5292	0,7476	5,59	
		2150	*1012*	*11,9420*	*9,4050*	*0,5495*	*0,7900*	*5,83*	
III.	1. (18. II.)	1880	1014	11,8440	8,5427	0,2782	0,7212	3,25	

Über die Beeinflussung der Morphinwirkung durch die Nebenalkaloide des Opiums.

Bemerkungen zu der gleichlautenden Arbeit von R. Meissner in Bd. 54, S. 395 u. ff. dieser Zeitschrift.

Von

Walther Straub.

(Eingegangen am 9. Oktober 1913.)

Die Arbeit Meissners ist in Auffassung und Resultat so sehr „antagonistisch" zu den von mir und meinen Mitarbeitern zum gleichen Problem des Synergismus beigebrachten Mitteilungen, daß ich mich verpflichtet sehe, zu ihr Stellung zu nehmen, um so mehr, als ich das Produkt unserer Untersuchungen in die Welt der Praxis gesetzt habe.

Meissner stellt in den Vordergrund seiner Arbeit einen Satz aus meiner Mitteilung in der Münch. med. Wochenschr. Nr. 28, 1912: „Straub sieht in dem Narkophin die derzeitig rationellste Lösung des Opiumproblems. Andere Autoren halten das Pantopon für den besten Opiumersatz" und schließt mit dem Satz: „es dürfte . . . weit eher das Pantopon als das Narkophin für die derzeit rationellste Lösung des Opiumproblems angesprochen werden".

Zunächst sind „rationellste Lösung des Opiumproblems" und „der beste Opiumersatz" verschiedene Dinge, verschieden wie Theorie und Praxis; sie können überhaupt nicht in Gegensatz gesetzt werden; ich habe es auch vermieden, Pantopon und Narkophin experimentell zu vergleichen. Dies für den Leser der Meissnerschen Arbeit, der meine Arbeiten nicht kennt. Dann aber habe ich mir meinen Satz genau überlegt und halte ihn heute noch aufrecht, obwohl z. B. für die Darmwirkung des Opiums inzwischen schon bessere Lösungen gefunden zu sein scheinen. Ich habe das Opiumproblem definiert als die Frage, wie es kommt, daß die 20 Opiumalkaloide zusammen anders — der Praktiker sagt besser — wirken als das Morphin allein. Die endliche Lösung des Problems ist sehr einfach, man hat ja nur alle 20 Alkaloide in allen fraglichen Mischungsverhältnissen zu untersuchen. Sie wird begreiflicherweise nie erreicht werden, denn wie in der Arbeit von Cäsar[1]) — für die ich

[1]) Diese Zeitschr. **42**, 316.

gleichfalls verantwortlich bin — auseinandergesetzt ist, kann kaum noch das System von 3 Opiumalkaloiden rationell untersucht werden. „Es ist deshalb sicher, daß die Potenzierung der Morphinwirkung durch Narkotin nicht die letzte Lösung des Opiumeffektes bietet", heißt es bei Cäsar (S. 313), aber sie ist doch die derzeit rationellste, weil das System Morphin-Narkotin in allen Punkten untersucht ist und sich herausgestellt hat, daß es die tier-experimentell faßbaren Differenzen zwischen Morphin und Opium mitmacht. Der Nachdruck in meinem Satz liegt in der logischen Bedeutung des Wortes „rationell". Also, die rationellste Lösung nenne ich das Narkophin, weil es das optimale Mischungsverhältnis seiner Komponenten ist und weil die Ausprobierung der möglichen Mischungsverhältnisse ergab, daß es nur ein praktisch realisierbares Optimum gibt, das im Opium selbst mit seinem schwankenden Narkotingehalt nur ganz zufällig einmal realisiert sein wird. So braucht auch das rationellste Präparat durchaus nicht das „beste" zu sein, nicht einmal „derzeit", wie in der Antithese vom Pantopon die Meinung erweckt wird.

So ist aber auch in diesem logischen Sinne von „rationell" das Pantopon überhaupt keine Lösung des Opiumproblems, da es ja doch nur die Summe aller im Ausgangsmaterial jeweils gelieferten Alkaloide ist, und so sind auch die beiden Laudanone keine rationelle, sondern nur eine empirische Lösung. Das hindert aber natürlich durchaus nicht, daß die drei Präparate Pantopon, Laudanon I und II die „beste" Lösung des Problems sein können.

Wichtiger wie der Streit um Worte ist indessen der um die Tatsachen, worauf nun einzugehen ist.

Meissner bezweifelt auf Grund seiner Untersuchungen, daß überhaupt eine Potenzierung von Morphinwirkung durch Narkotin stattfindet. Abgesehen davon, daß die Last dieser Entdeckung nicht auf meinen schwachen Schultern allein liegt, sie ist ja ziemlich gleichzeitig von Faust, Issekutz und Jakobj gemacht worden, hat Meissner gerade diejenigen meiner Versuche, auf die ich am festesten die Behauptung stütze, gar nicht wiederholt. Ich meine die Toxizitäts- und die Wirksamkeitsversuche an Mäusen. Meine Resultate über die sehr beträchtliche Verminderung der tödlichen Morphindosis durch Narkotinzusatz an Mäusen bedeuten eine glatte unbestreitbare Potenzierung, sogar mit einer ganzen Zahl und nicht einem Bruch als Exponent. Und daß diese Potenzierung nicht nur mit dem Index „Tod" zu messen ist, ergaben Herrmanns[1]) Messungen am Mäuseschwanz, also einer positiv-funktionellen Reaktion. Diese Feststellungen sind von meinen Mitarbeitern mehrfach nachgeprüft worden, und zwar ohne Voreingenommenheit, denn die Untersucher bekamen anfangs ihnen unbekannte Morphin-Narkotinmischungen vorgelegt. Wenn man nun bei irgendwelchen anderen Prüfungen keine Potenzierung findet, so kann man deshalb nicht generell diese ablehnen. Das sei übrigens nicht gegen Meissner bemerkt.

[1]) Diese Zeitschr. 39, 221, 1912.

Unter den Wirkungsdifferenzen zwischen Opium und Morphin wird von der Praxis die stärkere narkotische Wirkung des Opiums angegeben. Issekutz hat sie mit der Kombination Morphin-Narkotin an Fröschen wiedergefunden, ich habe nach ihr mit meinen Versuchen an Katzen gesucht. Da an Katzen das Narkotin nicht narkotisch wirkt, die Narkotinvorbehandlung aber die Excitationswirkung des Morphins in eine narkotische verwandelte, habe ich diese Beobachtung als gleichsinnig mit meiner früheren von der Toxizitätssteigerung angesehen und demgemäß Potenzierung genannt[1]). Die Tatsache bestreitet M., und die von ihm mitgeteilten Versuche an Katzen ergeben sie auch nicht, denn auch seinen einen positiven Versuch würde ich nicht als beweisend ansehen können.

Ich muß hierzu bei meiner Behauptung bestehen bleiben. Während der stundenlangen Beobachtungsdauer haben die Katzen nicht getobt, und wenn ich ihnen nach einigen Tagen die gleiche Dosis Morphin gab, bekamen sie die stärkste Excitation. Da hier die subjektive Beobachtung maßgebend ist, habe ich die Versuche vielen Zeugen demonstriert, sie gelangen sogar vor einem großen Auditorium in einer Sitzung der medizinischen Gesellschaft! Die Differenzen zwischen M. und mir dürften vielleicht folgende Lösung finden. Katzen reagieren ganz verschieden intensiv auf Morphin. Eine wirksame Normaldosis läßt sich leider nicht aufstellen, ich habe sie in sehr vielen Versuchen vergeblich zu ermitteln versucht. So kommt es, daß auf dieselbe Dosis das eine Tier tobt, das andere aber ganz ruhig bleibt. Andererseits ist die Beteiligung des Narkotins nur eine relative in engen Grenzen. Beweisende Versuche müssen also mit der minimalen wirksamen Morphinmenge angestellt sein. Aber die kann man auch für das gewählte Individuum nicht vorher ausprobieren. So ist man darauf angewiesen, auf gut Glück eine nicht zu große Morphindosis in der Kombination zu wählen und nachher, d. h. am anderen Tage, am selben Tiere die Wirkung des Morphinäquivalentes zu prüfen. Die Wirkung erscheint dann stärker. In meiner Arbeit sind auf S. 423 die Bedingungen dieser Versuche übrigens genau kritisiert, und so kann ich in den M.schen Versuchen nicht so eigentlich eine Widerlegung der meinigen sehen. Übrigens habe ich den Eindruck, als wären die Morphindosen der M.schen Versuche für seine durchschnittlich recht kleinen Tiere reichlich große.

Die Versuche sub I und II, die Atemfrequenz und das Atemvolum betreffend, kann ich nicht gelten lassen. Meine ersten Versuche der Prüfung des Narkophins auf die Atmung betrafen natürlich auch die Frequenz dieser. Ohne Operation, lediglich in einem engen Kasten sitzend, stellte ich zur Schonung ohne Registrierung nur durch Beobachtung die Frequenz fest, mußte aber bald einsehen, daß selbst im Morphinzustand ein stabiler Rhythmus nie zu erreichen ist, wovon ja auch M. berichtet. Ich habe deshalb diese Versuche alle verworfen.

[1]) Die exakte Stütze meiner Behauptung ist aber in den Mäuseversuchen gegeben.

Ein wie labiles Ding die Atemfrequenz des Kaninchens selbst im Morphinzustand ist, zeigt deutlich ein lehrreicher Vorlesungsversuch. Gibt man einem aufgebundenen, aber nicht anderweitig narkotisierten Kaninchen eine starke Dosis Morphin, so bekommt man eine beträchtliche Frequenzverlangsamung, diese Verlangsamung wird aber durch Geräusche, z. B. eines klappernden Schlüsselbundes, wie in der Fig. 1 durchbrochen. In den M.schen Versuchen waren die Tiere nicht narkotisiert, dagegen tracheotomiert; nach meinen Erfahrungen können auch so noch keine zuverlässigen Ergebnisse erwartet werden. Tatsächlich gehen die M.schen Werte denn auch sehr auseinander und sind zum Teil recht unwahrscheinlich. So ist es doch sehr merkwürdig, daß in Versuch 4 S. 399 9 Minuten lang bei einer durchschnittlichen Frequenz von 18 Atemzügen nur 16 ccm Luft pro Minute, oder gar (wie in Versuch 5b auf derselben Seite) mit 27 Atemzügen nur 1 (ein) ccm Luft pro Minute geatmet worden

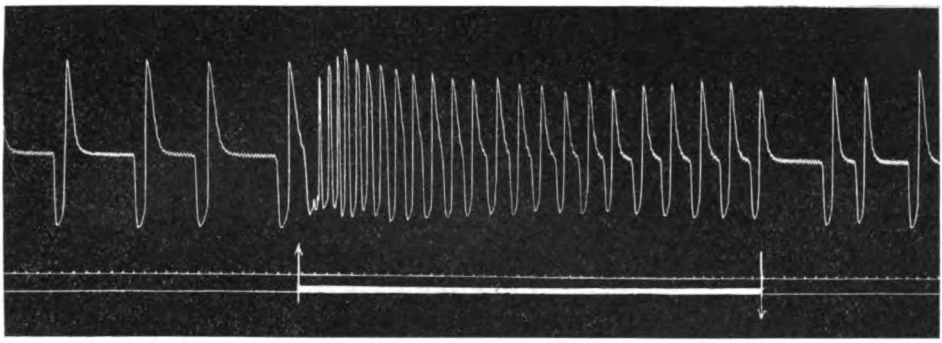


Fig. 1. Kaninchenatmung nach 0,05 Morphin von ↑—↓ Geräusch.

sein soll! Den Versuchen zum gleichen Kapitel sub III S. 402 kann ich eine besondere Beweiskraft nicht zuerkennen, da nach den tagelangen Pausen das Versuchstier zwar wohl die gleiche Kaninchenperson geblieben sein wird, physiologisch sich aber immerhin geändert haben kann.

Bezüglich der Regulationsfähigkeit des Atemzentrums unter Morphin-Narkotin-Wirkung besteht zwischen M. und mir im großen ganzen Übereinstimmung, allerdings ist auch hier die Bemerkung zu machen, daß die Versuche M.s denen von mir und meinen beiden kontrollierenden Mitarbeitern wohl ähnlicher geworden wären, wenn zum Zwecke der Fernhaltung von Außenreizen die Tiere unter leichter Allgemeinnarkose gestanden hätten.

Bei der Anstellung meiner Untersuchung war es mir noch nicht bekannt, daß Urethan und Morphin auch am Atemzentrum synergistisch wirken, was inzwischen durch eine Untersuchung von Wolff (im Druck) festgestellt worden ist. Vielleicht liegt darin der Grund, warum unsere Versuche zum vorliegenden Kapitel besonders eindeutig wurden. In dieser Richtung beabsichtige ich, die Versuche wieder aufzunehmen.

Gegen die Deutung, die M. dem Resultat gibt, daß nämlich das Narkotin der Antagonist des Morphins am Atemzentrum ist, habe ich gar nichts einzuwenden, um so weniger, als mir die Atemwirkung des Narkotins wohl bekannt ist. Man wird diese Erklärung dann auch dem „Opiumeffekt" an der Atmung zugrunde legen. De facto läuft es eben auf jene „Schonung" des Atemzentrums hinaus, die die Praxis als Vorzug des Opiums vor dem Morphin rühmt.

Wenn schließlich M. (S. 429) zu dem Resümee kommt, „daß beim Vergleich von Narkophin, Pantopon und Laudanon irgendwelche prinzipiellen Unterschiede nicht festzustellen waren", so fühle ich mich dadurch fast belohnt, denn der Zweck meiner Untersuchungen war es ja, die rationellste und einfachste Kombination zu finden, die dasselbe leistet wie das inkonstant zusammengesetzte Opium, oder was dasselbe ist, Pantopon.

Anm. Die Differenz zwischen M. und mir, darin bestehend, daß bei M. mit 5 mg Morphin nach 1 Stunde der Kohlensäurereiz wirksam ist (S. 419, Abs. 2), während in meiner Figur 1*A* völlige Unerregbarkeit herrscht, möchte ich nicht stark bewerten, denn in den folgenden Versuchen meiner Arbeit (Fig. 2*A* und 3*A*) war die Erregbarkeit durch Kohlensäure selbst nach 10 mg Morphin niemals ganz verschwunden. Die Anspruchsfähigkeit des Atemzentrums ist eben auch eine Funktion der Reizgröße. Der Reiz einer 10%igen Kohlensäureatmosphäre wird sehr verschieden wirksam sein, je nach der Kohlensäurespannung im Blute der Tiere, und diese wechselt bekanntlich beträchtlich.

Membran und Narkose.

Weitere Beiträge zu einer kolloidchemischen Theorie der Narkose[1]).

Von

S. Loewe.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 8. Oktober 1913.)

Mit 14 Figuren im Text.

I. Einleitung.

Die immer breitere Basis gewinnende Erkenntnis, daß eine große Reihe physiologischer Vorgänge physikalisch-chemischer Natur sind und daß gerade zahlreiche mächtige Funktionsstörer nicht durch irgendwelche hohe und besondere chemische Affinität, oft dagegen durch physikalisch-chemische Eigenarten gekennzeichnet sind, verweist darauf, auch in der Pharmakologie zur Stillung des Kausalitätsbedürfnisses die physikalische Chemie in weitestem Maße heranzuziehen. Indessen sind die physikalisch-chemischen Systeme, in denen die die Funktion verändernden oder als Funktionsänderung imponierenden Reaktionen zwischen Gift und Substrat vor sich gehen, so komplizierter Art, daß die physikalische Chemie aus sich heraus noch keineswegs immer die Antworten auf die an sie gerichteten Fragen der Pharmakologie zu geben vermag.

Die physikalisch-chemischen Fragestellungen beginnen sogleich mit dem Eintritt in den Körper, mit dem Eintritt in das erste dem Gift dort entgegentretende physikalisch-chemische System (Blut, Lymphe, Gewebsflüssigkeit). Dieses System ist

[1]) Die früheren Mitteilungen sind unter dem Titel „Zur physikalischen Chemie der Lipoide I, II, III und IV" in dieser Zeitschrift 42, 150, 190, 205 u. 207, 1912, erschienen.

jedoch keineswegs das einzige, mit dem sich das Gift bis zur Erreichung seines schließlichen Wirkungsortes ins Gleichgewicht zu setzen hat. Denn die Heterogenität, die Vielphasigkeit, ist das wesentlichste Kennzeichen der lebenden Materie. Das bedeutet für ein Agens, das einer entfernteren Wirkungsstätte zustrebt, daß es eine größere oder kleinere Anzahl von verschiedenartigen Wegstrecken zu durchwandern hat, die es nur durch einen jedesmal neuen komplizierten physikalisch-chemischen Vorgang passieren kann. Bei jeder Giftwirkung sind also dreierlei Arten von Vorgängen zu studieren: Eintritt in das erste sich darbietende System, Durchwanderung von Zwischensystemen und Einwanderung in das eigentliche Reaktionssystem. Für alle Gifte, deren Wirkung nicht schon durch den ersten Vorgang erschöpft ist — solches ist der Fall, wenn durch den Eintritt des Giftes eine ausschlaggebende Verschiebung bereits im Gleichgewicht des ersten Systems zustande kommt —, stehen die Wanderungs- und Aufnahmevorgänge der zweiten und dritten Art im Vordergrunde, wenn es sich darum handelt, den feineren Mechanismus ihrer endlichen Wirkung zu studieren.

Es erhebt sich nun die Frage, in welcher Weise und ob überhaupt zweckmäßigerweise die Vorgänge der zweiten und dritten Art voneinander geschieden werden sollen. Zunächst braucht der Ort, an dem sich die Vorgänge der dritten Art abspielen, keineswegs, wie irrtümlich angenommen werden könnte, stets die Zelle zu sein, wie denn überhaupt „die Zelle" als Ganzes für Betrachtungen von der Art der vorliegenden einen nicht besonders brauchbaren Begriff darstellt. Da die Zelle in der gleichen Weise mehrphasig vorgestellt werden muß, wie ein vielzelliger Organismus, so liefert sie durchaus in der gleichen Weise wie dieser Durchgangs- und Endphasen für das eindringende Gift, deren jede in ihrer Reaktion mit dem Gift bei der Absicht einer genaueren Analyse der Giftwirkung getrennt und zunächst unabhängig von dem Zellbegriff in Untersuchung gezogen werden müßte. Weiter muß daran gedacht werden, daß dasselbe System je nach den Umständen in doppelter Weise fungieren kann. Es kann für das eine Gift als Durchgangsphase in Betracht kommen, also eine zweiseitige Phase darstellen, deren zugekehrte Grenzschicht das Gift ebensogut passieren muß, wie die zweite abgekehrte Grenzschicht; es

wird also in diesem Falle, um es kurz, wenn auch mit einem nicht vollständig zutreffenden Bilde zu bezeichnen, sozusagen als „System mit doppelter Front" in Aktion treten. Dasselbe System aber kann nun gleichzeitig für ein anderes Gift die Einwanderungs-, i. e. Aktionsphase darstellen, wobei also das Gift bis zu seiner endgültigen Wirkung nur die eine — zugekehrte — Grenzschicht passieren braucht. In diesem letzten Falle kann naturgemäß eine Berücksichtigung der zweiten abgewandten Grenzschicht aus der Betrachtung fortfallen. Wenn wir im Einklang mit der herrschenden Nomenklatur jene Durchgangssysteme „mit doppelter Front" als Membranen bezeichnen, so müßten wir diejenigen Agenzien, die ein solches System in seiner Funktion beeinflussen, Membrangifte nennen. Allein es müßte sich dann auch mit Bezug auf die Gifte die oben für die Phasen aufgeworfene Frage erheben; auch die Zweckmäßigkeit der Abgrenzung einer solchen Gruppe von Membrangiften muß nämlich problematisch erscheinen, denn es kann, wie erwähnt, von zwei materiell gleichen durch das gleiche Agens gleichartig beeinflußten Systemen das eine physiologischerweise zufällig als Membran fungieren, das andere aber nicht.

Es wird lehrreich sein, für einen solchen Fall, in dem die Entscheidung schwer wäre, wo man konsequenterweise mit der Verwendung des Ausdrucks Membrangift einsetzen oder aufhören müßte, ein Beispiel zu erdenken und an der Hand eines solchen fiktiven Beispiels den Unterschied zu erörtern: Es werden gemäß den Fig. 1 und 2 zwei kleine

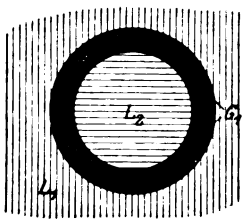


Fig. 1.

Fig. 2.

Stücke eines gleichkonzentrierten Gelatinegels, G_1 und G_2, vorgestellt. G_1 sei von flächenartiger Form und grenze als sphärischer Hohlkörper eine Lösung L_2 ringsum ab von einer Lösung L_1; in L_2 spiele sich eine Glykogenspaltung ab und die für Glykogen undurchlässige, für die Endprodukte seiner Spaltung durchlässige Hülle G_1 habe die Funktion,

durch die auf ihrer Semipermeabilität beruhende Fortschaffung der Endprodukte das Gleichgewicht des Spaltungsvorgangs immer wieder zugunsten der Bildung weiterer Endprodukte zu verschieben. — G_2 sei von kugelförmiger Gestalt und befinde sich in einer Lösung L_3, in der etwa eine Synthese von Traubenzucker zu Glykogen vor sich gehe. G_2 habe die Funktion, die gebildeten Glykogenteilchen an seiner Oberfläche zu verdichten und so das Gleichgewicht zugunsten einer weiteren Bildung von Glykogen zu verschieben. Es trete nun in die Lösungen L_1 und L_3 die gleiche Menge von Sulfation, derart, daß seine zuvor unbedeutende Konzentration in beiden den gleichen merklichen Betrag annehme. Es wirke das Sulfation auf G_1 und G_2 im gleichen Maße entquellend; die Folge sei bei G_1, daß die nunmehr verdichtete Gelatinemembran in ihrer Durchlässigkeit für Traubenzucker beeinträchtigt werde, daß also der Glykogenspaltungsprozeß in L_2 wegen der Häufung der Endprodukte ungünstig beeinflußt werde. Die Entquellung von G_2 hinwiederum bedinge eine Verringerung an adsorptionsfähiger Oberfläche, also eine verminderte Beseitigung aufgebauten Glykogens aus L_3, somit umgekehrt eine Beeinträchtigung des Glykogenaufbaus. Mun braucht nun nur noch anzunehmen, daß die Vorgänge des Glokogenauf- bzw. -abbaues „Zellfunktionen" sind, d. h. daß in unseren Beispielen sich die Lösungen L_2 und L_3 im Innern von Zellen befinden. Wir haben es dann in beiden Fällen mit dem gleichen Gift, dem Sulfat, zu tun. Die Wirkung dieses Giftes ist in beiden Fällen insofern die gleiche, als beide Male sein feinerer Wirkungsmechanismus, die Entquellung, sich in genau gleicher Weise wiederholt. Auch insofern wirkt das Gift in beiden Fällen in gleicher Weise, als es beide Male eine Zellfunktion verändert, also ein Zellgift darstellt. Und nur von dem Standpunkt des Zellbegriffs aus, den wir ja als nicht zur Sache gehörig aus der Betrachtung fortlassen wollten, besteht ein Unterschied des Effekts in beiden Fällen, weil zufällig nach Einwirkung des Giftes eine Zellfunktion (die wahrscheinlich im Leben der Zelle nur eine von vielen anderen, hier nicht berücksichtigten ist) in jedem der beiden Fälle in entgegengesetztem Sinne verändert gefunden wird. Wenn wir aber gerade nicht diesen zufälligen Effekt, sondern den wirklichen Wirkungsmechanismus des Giftes im Auge behalten, so haben wir es in beiden Fällen mit vollkommen identischen Vorgängen zu tun. In einem Falle aber müssen wir nun das Substrat des Giftes nach der herrschenden Bezeichnungsweise als Membran auffassen, während dies im anderen Falle nicht zulässig ist. Soll nun aber eine grundsätzliche Trennung in der Betrachtung beider Wirkungen des Sulfations vorgenommen werden, nur weil es genau genommen in einem Falle als Membrangift gewirkt hat, im anderen nicht?

Um die so präzisierte Frage beantworten zu können, erscheint es notwendig, den Membranbegriff, der auch von anderen Gesichtspunkten aus, wie sich ergeben wird, einer eindeutigen Umschreibung bedarf, einer genaueren Analyse zu unterwerfen.

II. Der Membranbegriff.

Schon einmal sind die Membranen in klarer und ihrer biologischen Bedeutung würdiger Weise von Zangger[1]) behandelt worden. Allein man vergegenwärtige sich, daß einerseits Membranen im landläufigen Sinne im Organismus doch nur in verhältnismäßig beschränkter Zahl und nur an verhältnismäßig wenigen Stellen vorhanden sind, andererseits aber aus den verschiedensten Gründen doch Gebilde von Membranfunktion an vielen Stellen supponiert werden, wo sie nicht nachgewiesen werden können oder wenigstens noch nicht nachgewiesen sind. Wenn nun also die nach dem obigen Beispiel sich aufdrängende Frage entschieden werden muß, ob es zweckmäßig ist, besondere Membrangifte abzugrenzen und gesondert zu prüfen und abzuhandeln, ob dadurch nicht eine bewußte und unzulässige Vernachlässigung anderer, im Grunde gleichartiger und gleich wichtiger, nicht an Membranen sich abspielender Wirkungen der gleichen Agenzien verschuldet wird, und ob nicht vielleicht alle derartigen Wirkungen bei geeigneter Betrachtungsweise doch zu gemeinsamer Behandlung vereinigt werden können, so wird es erlaubt erscheinen, zu solchem Ende den Membranbegriff einer erneuten Analyse von Grund auf zu unterwerfen.

Zu diesem Zweck kann mit Vorteil bereits an dem Punkte eingesetzt werden, wo die Bezeichnung Membran ihre erste wissenschaftliche Verwendung erfuhr, nämlich in der Physik.

Hier ist es die Akustik, welche weitgehenden Gebrauch von Membranen macht und daher für ihre Zwecke eine genaue Begriffsabgrenzung geschaffen hat, und zwar unter Zugrundelegung von Eigenschaften, die die Elastizitätslehre beschrieben, wenn auch leider nicht in einer für unsere Absichten ausreichenden Weise erklärt hat. Die Begriffsentwicklung nimmt dabei folgenden Weg: Unter den schwingenden Körpern sind zunächst die einfachsten diejenigen, bei denen nur eine Dimension hervortritt. Sie sind einzuteilen in Stäbe und Saiten, je nachdem sie Biegungselastizität[2]) und daher schon in natür-

[1]) Erg. d. Physiol. 7, 99, 1908. — Auch bereits: Vierteljahrsschr. d. Naturf.-Ges. Zürich. 51, 432, 1906.

[2]) „Elastizität" bedeutet hier und im folgenden, dem Sprachgebrauch des Physikers folgend, „Widerstand gegen Deformation".

lichem Zustand eine bestimmte Gestalt besitzen oder nicht. Den Saiten fehlt im Gegensatz zu den Stäben diese Eigenschaft der Biegungselastizität. Ihre wesentlichste physikalische Eigenschaft ist daher, daß sie biegenden Kräften ohne Widerstand nachgeben. Sie behalten demzufolge jede beliebige ihnen gegebene Form bei, bis man ihnen eine andere zuteilt. Die ideale Saite hat daher keine „Steifigkeit", also keinen Biegungswiderstand, und deshalb keine Fähigkeit, Biegungsschwingungen auszuführen wie die Stäbe, solange sie nicht gespannt ist. Gespannt erhält sie eine der äußeren gleiche innere Spannung, die an Stelle der fehlenden Steifigkeit tritt. Geht man nun von diesen im idealen Grenzfall eindimensionalen Körpern zu den idealiter zweidimensionalen über, so stehen sich in der gleichen Weise wie dort Stäbe und Saiten, hier Platten und Membranen gegenüber. Und zwar sind es die Membranen, die in zweidimensionaler Ausdehnung die vollständige Analogie der Saiten bilden. Auch bei ihnen kann die Biegungselastizität gegenüber der Spannung, in die sie versetzt werden, vernachlässigt werden. Freilich ist schon für den Physiker die experimentelle Behandlung dieser seiner Membranen schwierig, weil kein Material zu finden ist, das nicht doch einen erheblichen Grad von Steifigkeit besäße; auch das feinste Seidenpapier behält nicht jede mitgeteilte Biegung bei, sondern ist bestrebt, gewisse ihm einmal längere Zeit zugeteilte oder sonst zusagende Gestalten anzunehmen. Ähnlich ist es bei den anderen Substanzen, die mit ihm zusammengehörig genannt werden, z. B. Pergament, Schweinsblase, Kautschuk. Im gleichen Zusammenhange werden weiter, um dies gleich vorwegzunehmen, aufgezählt: Seifenhäutchen, Gelatine, Kollodium. (Nach Auerbach[1]), besonders S. 281 ff. und S. 368 ff.).

Was ist nun die Grundlage des unterschiedlichen Verhaltens der genannten Gebilde? Wir sahen, daß der Unterschied gegeben ist in dem Grade der Biegungselastizität. Das Maß der Biegungselastizität ist nun die Deformation s, die der Körper unter der Einwirkung einer bestimmten äußeren Kraft P erleidet. Betrachten wir der Einfachheit halber ein Gebilde,

[1]) F. Auerbach, Akustik, in H. Winkelmann, Handbuch der Physik, 2. Aufl., 2, 1909.

bei dem die Ausdehnung in einer Dimension überwiegt, so gilt für diese Deformation

$$s = \frac{1}{4E} \cdot \frac{l^3}{ab^3} \cdot P,$$

worin l die Länge, a die Breite und b die Dicke des Gebildes bedeutet[1]). Es ist ersichtlich, daß zunächst die Dicke des Gebildes eine außerordentliche Rolle spielt; je dünner die Gebilde sind, um so leichter werden sie deformierbar sein, um so geringer ist ihre Biegungselastizität, um so größer ist, wenn wir dies nun auf Gebilde mit überwiegender Ausdehnung in zwei Dimensionen übertragen, ihre Befähigung zur Membranfunktion. Ein Merkmal der Membranen, ihre Dünne, haben wir so gefunden, also ein Charakteristikum der Form. Dasselbe Material kann also Membranen und Platten liefern, je nachdem seine Form dünn oder dick gewählt wird. Wählen wir nun zum Vergleich zwei verschiedene Materialien und geben ihnen gleiche Ausmessungen, setzen wir also außer P noch l, a und das vor allem ausschlaggebende b gleich, so werden Unterschiede von s, der Deformation, und damit auch der Biegungselastizität, ihren Grund nur noch in einer Verschiedenheit von E haben. E ist eine der Substanz des Gebildes eigene Konstante, der Elastizitätsmodul. Je größer diese Konstante des Materials, desto kleiner ist ceteris paribus s, desto größer die Biegungselastizität. Schalten wir also die Form aus der Betrachtung aus, so werden die guten Membranbildner unter den Materialien mit kleinem Elastizitätsmodul zu suchen sein. Was für Materialien sind das?

Die im landläufigen Sinne flüssigen Körper scheiden ohne weiteres aus, weil sie eine zu niedrige Elastizitätsgrenze haben; sie setzen einer Verschiebung der Teilchen durch eine äußere Krafteinwirkung keine Teilchenkraft entgegen und behalten daher die ihnen gegebene Form auch nach dem Aufhören der äußeren Krafteinwirkung bei, bis ihnen wieder eine neue Form gegeben wird. Solche Materialien sind also für die Schwingungslehre als Objekte ganz ungeeignet. Unter den festen Körpern scheiden wiederum die plastischen Stoffe aus, die die gleichen

[1]) Nach E. Riecke, Lehrbuch der Physik, 4. Aufl., Leipzig 1908, 1, 253.

Eigenschaften, nur weniger vollkommen, aufweisen. Es bleiben also unter den festen Körpern nur noch die starren und die ideal elastischen übrig. Die starren Körper halten im idealen Grenzfall die gegenseitige Lage ihrer Teilchen streng aufrecht, sie werden also, immer vorausgesetzt, daß alles auf die gleiche Dicke bezogen wird, schlechte Membranbildner sein. Die guten Membranbildner sind unter den ideal elastischen Stoffen zu suchen, die mit den anderen nichtstarren, den Flüssigkeiten und den plastischen Stoffen, die Eigenschaft teilen, daß ihre Teilchen gegenseitig unter der Einwirkung einer äußeren Kraft verschieblich sind, während im Gegensatz zu jenen die Verschiebung nach dem Aufhören der Krafteinwirkung wieder vollkommen verschwindet[1]).

Bedenkt man nun aber, daß auch die starrsten Stoffe, die Krystalle, unter geeigneten Bedingungen (z. B. der Temperatur) in den absolut nichtstarren flüssigen Zustand übergehen können, so erkennt man, daß es nicht die Materialien als solche sind, von denen die Befähigung zur Membranbildung abhängt, sondern ihr Zustand. Richtet man sich nach den Grundsätzen, die Tammann[2]) für die Grenzen des festen und flüssigen Zustandes aufgestellt hat, so sind die Membranmaterialien, die gewiß alle nicht krystallinisch sind, sicher dem flüssigen Zustand zuzurechnen. Wenn man aber auch der Entscheidung zwischen diesen beiden Zuständen nicht das von Tammann angegebene strenge Kriterium, die diskontinuierliche Zustandsänderung, zugrunde legt, so muß man doch anerkennen, daß die alten Merkmale des festen Zustandes sehr unsicher sind, daß es also ein breites Übergangsgebiet gibt. In dieses gehören zunächst alle jene Stoffe, die Tammann als unterkühlte Flüssigkeiten auffaßt. Während nun die Grenzzustände, der sicher flüssige und der auch von Tammann als fest anerkannte krystallinische, hinsichtlich der Struktur der Stoffe gekennzeichnet sind durch eine räumliche Inhomogenität mit äußerst kleiner Periode, treten gerade in jenem Übergangsgebiet Inhomogenitäten von größerer Periode auf. Vor allem wird z. B. die Entscheidung, ob fest oder flüssig, schwer bei dem besonders

[1]) Nach Müller-Pouillet, Lehrbuch der Physik, 10. Aufl., 1905.

[2]) Wied. Annal. **62**, 280, 1897; **66**, 473, 1898; **68**, 254, 1899. — Drud. Annal. **2**, 1, 1900; **3**, 161, 1900; **7**, 198, 1902.

durch eine Inhomogenität der letzteren Art gekennzeichneten Kolloidzustand. Und wenn wir nun noch einmal die oben[1]) aufgezählten Membranmaterialien des Physikers, die in der Schwingungslehre Verwendung finden, ansehen, so bemerken wir, daß sie in der Tat alle eine kolloide Struktur haben.

Warum das der Fall ist, dafür bleibt uns der Physiker selbst bis heute noch die molekularphysikalische Erklärung schuldig. Der gesuchte innere Zusammenhang zwischen Befähigung zur Membranbildung und Kolloidnatur ist vielleicht unbewußt in den Untersuchungen von Auerbach[2]) angedeutet, der die Elastizität und Härte der Kieselsäure verschiedenen Zustandes prüfte. Es stellte sich dabei heraus, daß diese beiden Eigenschaften kleinere Werte beim amorphen Quarz aufweisen als beim Bergkrystall, noch wesentlich kleinere als bei beiden bei dem wasserhaltigen Opal. Gleichzeitig mit der Verminderung der Werte jener beiden Größen tritt aber auch eine Vergrößerung des Volumens ein. Die Volumenvergrößerung, die z. B. beim amorphen Erstarren gegenüber einem vorherigen krystallinischen Zustand statthat, stimmt bei der Kieselsäure nach Auerbach ziemlich genau überein mit der Änderung der Härte und der Elastizität. Und in der Tat besitzen ja auch alle zur Membranbildung geeigneten Stoffe eine relativ geringe Dichte.

Es darf in diesem Zusammenhang nicht unerwähnt bleiben, daß es freilich auch Kolloide gibt, die zwar ideal elastisch sind, aber doch nicht zu den Membranen des Physikers geeignet sind, wie z. B. Glas. Sie unterscheiden sich nun von den früher aufgezählten membranbildenden Kolloiden in dem eben erwähnten Punkte: sie sind dichter. Warum also nicht alle Kolloide zu Membranen verwendbar sind, kann uns wiederum der Physiker nicht beantworten. Vielleicht gehört auch noch eine geringe Dichte zu den Eigenschaften, die die Verwendbarkeit als Membran ausmachen. Auf jeden Fall scheint es aber so, als ob die Dichte sicherlich eine Funktion der Struktur sei.

Eines läßt sich jedenfalls mit Sicherheit nach allem Angeführten sagen, daß nämlich für die Befähigung zur Bildung von physikalischen Membranen außer der Form noch ein zweites maßgeblich ist, nämlich der Zustand des Materials; dieser aber ist wiederum bedingt durch die Struktur. Eine be-

[1]) S. 166.

[2]) Drud. Annal. 8, 116, 1900.

sonders geartete Struktur ist also das zweite Charakteristikum der Membranen. Beachtenswert erscheint, daß es kolloide Strukturen sind — und zwar gewisse kolloide Strukturen, die freilich von den übrigen noch nicht mit scharfen Kennzeichen abgetrennt werden können —, die in den praktischen Objekten der Physiker ausschließlich vertreten sind.

Anhangsweise mag der Umschreibung dieses Membranbegriffs, der für die auf die Akustik angewandte Schwingungslehre von Bedeutung ist, noch eine kurze Betrachtung von Untersuchungen angefügt werden, die sich in einem anderen Gebiet der Physik mit „Membranen" befaßten; und zwar deswegen, weil auch bei diesen physikalischen Membranen der Kolloidzustand ins Auge fällt. Es handelt sich um die „dünnen festen Lamellen", deren Eigenschaften Quincke[1]) in langen, sorgfältigen Untersuchungen studiert hat. Er erzeugte solche Lamellen, indem er auf der ebenen Oberfläche von Quecksilber wässerige Lösungen von Hausenblase oder Gelatine, Gummi arabicum oder Agar-Agar, oder alkoholische Lösungen von Schellack, Gummigutt oder Harz, filtriertes Hühnereiweiß oder Blutserum, eiweißhaltigen Pflanzensaft (z. B. den filtrierten Preßsaft aus zerriebenen frischen Spargeln) eintrocknen oder geschmolzenes Wachs oder Kanadabalsam erstarren ließ. Er erzeugte also sicherlich in den meisten Fällen Membranen in dem strengsten Sinne, und wiederum sind alle diese Substanzen[2]) offensichtlich in kolloidem Zustande. Die Eigentümlichkeiten, die Quincke studierte, lagen nun in dem Verhalten der Oberflächenspannung dieser Membranen; sie verhielt sich in bezug auf die Grenzfläche der Membranen gegen das Quecksilber nach dem Erstarren oder Eintrocknen keineswegs wie die einer Flüssigkeit gegen eine Flüssigkeit, sondern es traten Erscheinungen auf, wie sie nur der Grenzfläche fest-flüssig eigentümlich sind. Und das, trotzdem die Membranen in fast allen Fällen nach dem Übergang in den festen Zustand, den Quincke auf Grund eben dieses Verhaltens der Oberflächenspannung für sie postulierte, sicherlich noch reichlich flüssiges Dispersionsmittel enthielten. Auch das andere von Quincke besonders eingehend studierte Verhalten, nämlich das Auftreten von inneren Spannungen und dadurch bedingten Anisotropien, kann in diesem Zusammenhang zweckmäßig erwähnt werden.

Fassen wir noch einmal alles zusammen, was wir hier in der Absicht, zunächst zu einem für den Physiker einheitlichen Membranbegriff zu gelangen, zusammengestellt haben, so finden wir zuerst eine der Form nach abgrenzbare Gruppe von Gebilden, die charakterisiert sind durch das Überwiegen der Aus-

[1]) Wied. Annal. **35**, 561, 1888. — Drud. Annal. **10**, 479, 673, 1903.

[2]) Nur das Wachs möchte man, wenn auch manches zugunsten seines Kolloidzustandes anzuführen wäre, vorsichtigerweise hierbei nicht mit einbegreifen.

dehnung in zwei Dimensionen gegenüber der Ausdehnung in der dritten. Innerhalb dieser durch die Form umschriebenen Gruppe sind aber wiederum die Membranen als Untergruppe abzugrenzen, und zwar auf Grund von weiteren Eigenschaften, die bei gleicher Form nunmehr in ihrer feineren Struktur begründet sind. Und zwar scheint es auf eine besondere Art von räumlicher Inhomogenität mit großer Periode anzukommen, wie sie bei kolloiden Systemen von geringer Dichte anzutreffen ist.

Die hier vorausgeschickten Erörterungen über die physikalischen Membranen erleichtern uns das Eingehen auf den physikalisch-chemischen Membranbegriff, das eigentliche Gebiet der vorliegenden Betrachtungen und Untersuchungen. Den statischen Gebilden des Physikers entsprechen in der physikalischen Chemie die Systeme. Analog den Betrachtungen im physikalischen Gebiet ist es auch in der physikalischen Chemie angebracht, solche Systeme zunächst gesondert zu betrachten, bei denen die räumliche Ausdehnung in zwei Dimensionen gegenüber der dritten vorwiegt, also eine Annäherung der dreidimensionalen Systeme an die zweidimensionale Grenzfläche besteht. Und gemäß den obigen Betrachtungen wird man nun nicht ohne weiteres solche durch die Form allein charakterisierten Systeme als Membranen zusammenfassen, sondern für diese noch genau so wie in der Physik strukturelle Besonderheiten fordern können. Man kommt so ohne weiteres zu einer scharfen Abgrenzungsmöglichkeit zwischen den beiden Unterarten derjenigen Systeme, die nach dem Kriterium der Form allein beide hierher gehören, zu einer Abgrenzungsmöglichkeit innerhalb der Gruppe der Zwischensysteme, die um so notwendiger erscheint, als die bisher gemeinsam für alle Vertreter dieser Gruppe gehandhabte Bezeichnung als Membranen zuweilen zu Irrtümern oder zum mindesten zu unnötigen Schwierigkeiten geführt zu haben scheint. Bei allen Zwischensystemen, die zwischen zwei beliebige, gleiche oder verschiedene äußere Systeme zwischengeschaltet sind, resultiert naturgemäß die Betonung derjenigen zwei Dimensionen, in denen sich die beiderseitigen Grenzschichten gegen diese Außensysteme erstrecken, gegenüber der dritten Dimension, der Dicke des Zwischensystems; solche Zwischensysteme sind aber in zweierlei

Struktur möglich; sie können homogen oder inhomogen sein, also z. B. in einem Falle aus einer echten Lösung (im gleichen oder gewöhnlich in anderem Lösungsmittel als das der Außensysteme), im anderen Falle aus einem mehrphasigen System bestehen, z. B. einem Gel. Beide Unterarten der Zwischensysteme sind bisher oft unterschiedslos als Membranen bezeichnet worden. Indessen wäre es von Wichtigkeit, an die Permeabilitätserscheinungen der Membranen, die den physikalischen Chemiker so viele Fragestellungen bereiten, und denen auch in der Biologie mit Recht eine so außerordentliche Bedeutung beigemessen wird, mit vereinfachten Gesichtspunkten herantreten zu können, und diese wünschenswerte Vereinfachung könnte sich vielleicht ergeben, wenn einmal der offensichtlich beträchtliche Unterschied der genannten beiden Untergruppen der physikalisch-chemischen Zwischensysteme zu einer scharfen, auch in der Namengebung zum Ausdruck kommenden begrifflichen Scheidung herangezogen würde. Es wird dieses Bedürfnis am besten einleuchten, wenn zuvörderst auseinandergesetzt wird, wie kompliziert die Dinge von der herrschenden Membranauffassung aus zu liegen scheinen.

Die einfachsten Typen von Zwischensystemen wurden experimentell betrachtet, als die Durchlässigkeit einer dünnen Schicht von Palladium studiert wurde, die bei hoher Temperatur zwischen zwei Gasphasen von ungleicher Wasserstoffkonzentration zwischengeschaltet war, oder die Durchlässigkeit einer dünnen, zwischen Äther und Benzol geschalteten Wasserschicht. Sowohl Palladium als auch Wasser befördern nun den sie durchwandernden Wasserstoff bzw. Äther dadurch von ihrer einen Seite zur anderen, daß sie ihn gemäß dem Henryschen Verteilungssatze aufnehmen, durch einfache Diffusion weiterpassieren lassen und nach den Gesetzen des gleichen Satzes an der gegenüberliegenden Grenzfläche wieder abgeben. Diese Art von Zwischensystemen stellt also ein einfaches, heterogenes Lösungsmittel für die permeierende Substanz dar. Maßgeblich für die Funktion dieser Zwischensysteme ist daher ihre gleichmäßige Zusammensetzung aus einem heterogenen Lösungsmittel (es könnte auch das gleiche Lösungsmittel sein, das in dem einen oder beiden der angrenzenden Systeme vertreten ist, doch ist dieser Fall praktisch wohl selten

für die Dauer realisierbar). Es handelt sich also in diesen Fällen einfach um Zwischenphasen, an denen nur das eine Kriterium der physikalischen Membranen, die Form, erfüllt ist.

Die einfache Betrachtung vom Henry-Nernstschen Verteilungssatze aus wird aber unmöglich, sobald wir an Stelle eines solchen einfachen Lösungsmittels ein mehrphasiges System, um das es sich in der Biologie schon aus ganz allgemeinen Gründen[1]) immer handeln wird, als Zwischensystem supponieren. Wenn wir etwa eine der früher[2]) aufgezählten physikalischen Membranen als Zwischensystem zwischen zwei Außenlösungen schalten würden, so müßten wir schon aus Billigkeitsgründen ein solches Zwischensystem als Prototyp einer physikalisch-chemischen Membran betrachten; und in der Tat stehen die Tatsachen einer solchen Betrachtungsweise nicht im geringsten im Wege. Es lägen dann aber die Verhältnisse der Permeabilität grundsätzlich anders, als etwa an der als Beispiel angeführten Zwischenphase aus Palladium, die für den Physiker eben auch keine Membran, sondern eine Platte darstellen wird. Es wird daher auch aus Zweckmäßigkeitsgründen die Beachtung der wohlabgegrenzten Begriffe des Physikers angebracht erscheinen, und es wird rätlich erscheinen, nur die letztgenannte Art von Zwischensystemen auf Grund ihrer Übereinstimmung mit den physikalischen Membranen als Membranen zu bezeichnen. Schon aus den bisherigen physikalisch-chemischen Betrachtungen geht hervor, daß man so zu einem Membranbegriff gelangt, der nicht nur folgerichtig aus dem älteren physikalischen hervorgewachsen ist, sondern auch die physikalisch-chemisch und biologisch wichtigste Eigenschaft der Membranen, ihre besonders geartete Durchlässigkeit, unter einheitlichem Gesichtspunkt zu betrachten gestattet. Aus den bisherigen Erörterungen heraus sind also zwei wesentliche Kriterien der physikalisch-chemischen Membran aufzustellen, nämlich ein Kriterium der Form oder auch der Lage, das ist die Anordnung als Zwischensystem zwischen zwei Außensystemen unter vorwiegender Ausbildung zweier Grenzschichten gegen diese, und zweitens ein Kriterium der Struktur, die Mikro-

[1]) Vgl. S. 162.
[2]) S. 166.

heterogenität, also die Erscheinung der Mehrphasigkeit der Membran in sich.

Sobald diese Eigenschaften der Membranen festgehalten werden, müssen zwei viel diskutierte und von beiden Seiten mit gleichem Erfolg verteidigte Theorien gänzlich aus dem Rahmen der Fragestellung herausfallen, nämlich die Lösungsmitteltheorie und die Porentheorie. Wie wir bereits sahen, ist die Lösungsmitteltheorie an der Hand verschiedener Beispiele mit Erfolg entwickelt worden. Zwischenphasen aus Eisen, Platin oder Palladium, die alle bei geeigneter Temperatur für Wasserstoff durchlässig sind, wurden von Deville und Troost[1]) beschrieben, eine Zwischenphase aus Wasser zwischen Äther und Chloroform, die praktisch nur für Äther durchlässig sein kann, von L'Hermite[2]) untersucht, alles dies konsequente experimentelle Belege dafür, daß Zwischenphasen in ihrer Durchlässigkeit durch ihre Lösungsmitteleigenschaften gekennzeichnet sein können. Allein Nernst[3]) hat nun auf Grund solcher Studien an Zwischenphasen von Lösungsmitteleigenschaften die gleichen Funktionen für das Protoplasma postuliert. Eine solche Lösungsmitteltheorie braucht nun aber überhaupt nicht mehr weiter daraufhin geprüft zu werden, inwieweit ihre physikalisch-chemischen Belege richtig sind, ihre Anwendung auf das Protoplasma hingegen falsch, sobald man unsere Definition der Membranen beobachtet, nach der zwar Protoplasma diese Bezeichnung tragen darf, nicht aber die Experimentalobjekte der Lösungsmitteltheoretiker.

Die Porentheorie der Membranen, wie sie von Wilh. Ostwald[4]) und M. Traube[5]) verteidigt worden ist, räumt zwar in beschränktem Sinne die Mehrphasigkeit der Membranen ein; allein ihre eine Phase wird als ein ganz gleichgültiges und konstantes Gebilde vorgestellt, das ausschließlich die Wände von Poren darstellt. In den Poren allein sollen sich die Vorgänge abspielen, die die Membranpermeabilität charakterisieren. So handelt es sich also in Wirklichkeit bei ihnen auch nur

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **56**, 977, 1863.
[2]) Ann. de Chim. et Phys. (3) **43**, 420, 1854.
[3]) Zeitschr. f. physik. Chem. **6**, 40, 1890.
[4]) Zeitschr. f. physik. Chem. **6**, 71, 1890.
[5]) Arch. f. Anat. u. Physiol. **1867**, 87.

um eine einzige Phase, die nur durch die besondere Gestalt, die Porenform, und die dadurch bewirkte Querschnittsveränderung modifizierte Eigensbhaften besitzen soll. Auch eine solche Theorie kann, wie die Lösungsmitteltheorie, als auf ungeeigneter Fragestellung beruhend von vornherein unbeachtet bleiben, weil eben nach dem präzis formulierten Membranbegriff nicht nur die Poren oder gar ausschließlich deren Größenverhältnisse ins Auge gefaßt werden dürfen, sondern das Verhalten des ganzen Systems zum Gegenstand der Betrachtung gemacht werden muß.

Aus eben diesem Grunde braucht auch die Porentheorie nicht erst in der Weise bekämpft werden, wie dies von seiten Tammanns[1]) geschehen ist. Denn wenn Tammann auch als erster wenigstens für die Niederschlagsmembranen die Kolloidnatur als charakteristische Eigenschaft erkannt hat, so scheint er doch die unbedingt notwendige Betrachtung des kolloiden Systems als Ganzen zu sehr außer acht zu lassen, wenn er zur Bekämpfung der Porentheorie die oben zurückgewiesenen Ausführungen der Verteidiger der Lösungsmitteltheorie allzusehr ins Feld führt. Er faßt nämlich den osmotischen Strom in einem mit einer Membran versehenen System als Destillationsprozeß auf, und daß er seine Betrachtungen unter Vernachlässigung der dispersen Phase auf das Dispersionsmittel der Membran beschränkt, geht schon daraus hervor, daß er als wichtig den Umstand betont, daß die Dampfspannung einer solchen Membran ganz mit der des reinen Wassers zusammenfallen kann. Auch daß die Niederschlagsmembranen nach Tammann die Eigenschaften von Flüssigkeiten haben sollen, kann nicht zu einer besseren Diskutierbarkeit der Lösungsmitteltheorie führen. Denn die Beweise hierfür, Dehnbarkeit, elektrolytisches Leitvermögen, Durchsichtigkeit, genügen zwar vollkommen, um nach den bereits früher erwähnten Kriterien Tammanns für die Grenze des festen und flüssigen Zustands die Membranen aus der Reihe der festen Körper im Tammannschen Sinne auszuschließen; allein wenn wir sahen, daß für die gleichen Membranen oder wenigstens für solche, die nach Tammann ebensowenig dem festen Zustand zuzurechnen wären, Quincke nach dem Verhalten der Oberflächenspannung gerade den festen Zustand erweisen will, wenn wir weiter daran denken, daß auch im Tammannschen Sinne feste Körper, nämlich Krystalle, Lösungsmittelfunktionen besitzen, wie z. B. die Kochsalzkrystalle gegenüber metallischem Natrium (blaues Steinsalz), so werden wir gut tun, derartige Erörterungen über den festen oder flüssigen Zustand der Membranen lieber aus dem Spiel zu lassen. Doch möchte in diesem Zusammenhang noch einiges ausgeführt werden, was mit besonderer Eindringlichkeit vor der Heranziehung solcher Gesichtspunkte warnen kann. So hat z. B. Quincke für unzählige Formen und Arten von Membranen aus der Art ihrer Ent-

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 9, 100, 1892.

stehung und den dabei zu beobachtenden morphologischen Vorgängen den Begriff der „flüssigen Niederschläge" geprägt. Diese Membranen sollten nämlich unmittelbar nach ihrer Entstehung — es handelt sich gleichfalls um Niederschlagsmembranen — den Gesetzen der Oberflächenspannung bei der Ausbreitung einer dünnen Flüssigkeitsschicht zwischen zwei Flüssigkeiten unterliegen, dehnbar und sich zusammenzuziehen bestrebt sein und erst allmählich nach einer meßbaren Zahl von Sekunden durch Wasserabgabe und eventuell Abgabe eines kleinen löslichen Teils der Niederschlagsverbindung fest werden, und dann eine zerreißliche, brüchige, feste Niederschlagsmembran bilden. Solange die Niederschläge „flüssig" sind, werden sie von ihm auch als „ölartig" bezeichnet. So verlockend diese Namengebung erscheint, um gerade aus ihr die Lösungsmittelfunktion derartiger, anscheinend einfach flüssiger Phasen abzuleiten, so zeigt sich doch bei näherer Betrachtung, daß gar kein Beweis versucht ist, die Kolloidnatur derartiger flüssiger Niederschläge zu widerlegen. Sobald aber diese offensichtliche Kolloidnatur eingeräumt wird, so ist der springende Punkt nicht mehr der feste oder flüssige Zustand der Membran, sondern ihre Eigenschaft als mehrphasiges System. Diese zugegeben, muß aber auch immer das ganze System ins Auge gefaßt werden und die Frage vernachlässigt werden, ob es im ganzen als Lösungsmittel oder als Porensumme behandelt werden soll.

Wir kommen also auf allen Wegen dazu, die Definition der physikalisch-chemischen Membran abzuleiten von dem physikalischen Membranbegriff und ihr aus dieser Entwicklung heraus ein Charakteristikum der Form, nämlich „die doppelte Front", und ein Charakteristikum der Struktur, nämlich die Mehrphasigkeit, praktisch gleich Kolloidnatur, zuzusprechen.

Erfreulicherweise stehen wir mit dieser Auffassung der physikalisch-chemischen Membran nicht allein. Zangger[1]) hat in seiner bereits eingangs erwähnten Abhandlung auf den Kolloidzustand der Membranen mit aller Lebhaftigkeit und Klarheit hingewiesen.

Gleich einleitend spricht er von den „dünnen, zwei Flüssigkeitssysteme trennenden Schichten kolloidaler Art, also den Membranen", und er sucht mit Recht den Grund der Unkoordiniertheit aller früheren Kenntnisse von den Membranen darin, „daß der allgemeine Gesichtspunkt, Bedeutung des Kolloidalzustandes der Membranmasse, nicht erkannt war". Allein er betont dann sogleich für seine ganze zur Klärung biologischer Fragen bestimmte Diskussion der Membraneigenschaften als Voraussetzung, „daß alle in Betracht kommenden Membranen aus Kolloiden bestehen". Er beschränkt also einmal seine wichtige Feststellung auf die biologisch in Betracht kommenden Membranen, und

[1]) l. c. S. 165.

er benutzt sie zudem bereits als Voraussetzung, ohne demnach in eine Begründung oder allgemein gültige Begriffsableitung einzutreten.

Die gleiche Selbstverständlichkeit der Kolloidnatur finden wir von Freundlich[1]) betont; freilich beleuchten seine Ausführungen zugleich, von wie einseitig biologischen Gesichtspunkten die Zanggersche Auffassung der Membranen geleitet ist und wie wenig sie daher zu einer allgemein gültigen Membrandefinition ausreichend sein kann.

Zangger nämlich legt besonderen Wert darauf, „daß es sich bei den Membranen um eine spezielle Gruppe von Kolloiden handelt, die sich von den Suspensionskolloiden entfernen: sie sind quellungsfähig und weitgehend reversibel, trocknen glasig (nicht pulverig), sie sind weniger elektrolytempfindlich als die Suspensionen; ganz rein (ohne Beisein von Elektrolyten) verhalten sie sich meist elektrisch neutral und durch Elektrolyte können sie sich je nach dem Zusatz verschieden laden". Er spricht also ausschließlich von den Membranen, die man mit einer im folgenden ersichtlichen Begründung als „gewachsene" bezeichnen könnte.

Freundlich dagegen meint: „Die Membranen lassen sich fast durchweg als Gele auffassen, und zwar sind es meist wenig elastische; sie sind ja vielfach aus amorph-flockigen Niederschlägen entstanden, deren Zwischenräume dann mit Wasser erfüllt sind." Er hat also vor allem gerade die Niederschlagsmembranen im Auge, die aus dem Rahmen von Zanggers Definition der Membranen ebensosehr herausfallen, wie aus dessen Erörterungen, die sich bewußt nur mit den biologisch „in Betracht kommenden" Membranen befassen.

Wenn wir nach den wertvollen Betrachtungen dieser beiden Autoren nochmals in so ausführlicher Weise uns mit dem Membranbegriff beschäftigen zu müssen glaubten, so wird eine Entschuldigung hierfür darin gefunden werden, daß unsere oben wiedergegebenen Überlegungen es ermöglichen, auch ihre beiden Anschauungen im Einklang zu bringen, die sich in ihren Einzelheiten geradezu zu widersprechen scheinen. Trifft doch auch in diesen beiden Fällen stets das von uns geforderte Merkmal der Mehrphasigkeit, der im Kolloidzustand sich äußernden Mikroheterogenität zu; und auch dem Merkmal der Form ist in jedem der beiden Fälle Genüge geleistet, nur gelangen die beiden Autoren auf verschiedenen Wegen zur Erfüllung dieser Vorbedingung, in dem einen Falle spontan durch „Wachstum", da es sich um die natürlichen Membranbildner der Biologie handelt, im anderen Falle durch die artefizielle Erzeugung auf dem Wege einer zur

[1]) Kapillarchemie, Leipzig 1909, S. 516.

Niederschlagsbildung führenden chemischen Reaktion. Beides ist von dem Standpunkt unserer Membrandefinition aus gleichgültig; gleichgültig ist von ihm aus auch, ob es sich um elastische oder um nichtelastische Systeme handelt.

Es erscheint also gerade auch, wenn wir die mit den unsrigen sich berührenden Auffassungsweisen früherer Autoren von Membran und Membranfunktion in Rücksicht ziehen, von Wichtigkeit, einen einheitlichen Membranbegriff aufzustellen, der nach allem Vorausgehenden etwa so formuliert werden muß:

Membranen im physikalisch-chemischen Sinne sind Systeme, welche durch ihre Form — flächenhafte Ausdehnung und Anordnung zwischen zwei angrenzenden Systemen —, zweitens aber auch durch eine besondere Struktur — Mikroheterogenität, Mehrphasigkeit, Kolloidnatur — gekennzeichnet sind.

Auf der Basis dieses Membranbegriffs können wir nun der eingangs aufgeworfenen Fragestellung wieder nähertreten, inwieweit es zweckmäßig ist, Substanzen, die an Membranen Veränderungen hervorrufen, selbständig als Membrangifte abzuhandeln. Zur Beantwortung dieser Frage müssen wir uns zuvor nur noch mit den Funktionen solcher Membranen ein wenig beschäftigen.

III. Membranfunktionen.

Zu einer sehr einfachen Zusammenfassung und Formulierung der hauptsächlichsten Membranfunktionen gelangt man, wenn man die räumliche Anordnung der Membran ins Auge faßt. Denkt man sich die Membran aus der Kombination der drei Systeme fortgelassen, deren mittleres sie darstellt, so berühren sich die beiden vorher an sie angrenzenden Systeme in einer einfachen Grenzfläche. Beschränkt man sich auf den praktisch im Tier- oder Pflanzenkörper wohl gewöhnlich realisierten Fall, daß beiden Systemen das gleiche Dispersionsmittel gemeinsam ist, und daß es sich bei beiden Systemen um wässerige Lösungen handelt, so wird, falls irgendein Ungleichgewicht beider Lösungen besteht oder irgendeine äußere Kraft auf beide Lösungen ungleichartig einwirkt, die zunächst scharfe Grenzfläche der Ausgleichstendenz beider Lösungen nur einen sehr geringen Widerstand entgegensetzen; der Ausgleich jeglichen Ungleichgewichts

zwischen beiden Systemen wird also sehr rasch vor sich gehen können. An Stelle dieser einen Grenzschicht befinde sich aber nun ein Zwischensystem von Membrannatur eingeschaltet. Die erste Funktion der Membran wird die Trennung der beiden Systeme in mechanischer Hinsicht sein. Da sie gemäß den Untersuchungen von Quincke zum mindesten in Hinblick auf den Zusammenhang ihrer Teilchen die Eigenschaften eines festen Körpers besitzt, so wird sie, solange sie unbeschädigt ist, ihre beiden Grenzsysteme vor allem vor mechanischer Durchmischung (Rührströme, Konvektionsströme) schützen. Also bleiben die Beziehungen zwischen den beiden Systemen ausschließlich auf die Diffusion durch die Membran hindurch beschränkt; daher wird die zweite und wesentlichste Funktion der Membran darin bestehen, daß die Diffusion in dem System der Membran eine andere ist als im freien Lösungsmittel der beiden Systeme. Sie wird die Ausgleichsmöglichkeit zwischen ihren beiden Grenzsystemen schon dadurch beeinflussen, daß die Diffusionsgeschwindigkeit der einem Ausgleich zustrebenden Komponenten der beiden Lösungen verringert wird. Das gleiche gilt auch für das Lösungsmittel; ist doch das wesentlichste Merkmal aller der Systeme, die ihrer Struktur nach zur Membranbildung befähigt sind, die Eigenartigkeit der Beziehungen der übrigen Komponenten des Systems zu ihrem Dispersionsmittel. Das geht schon daraus hervor, daß diese meistens zum weitaus größten Teile aus Lösungsmittel bestehenden Systeme dennoch keineswegs die mechanischen Eigenschaften eines flüssigen, sondern vielmehr die eines festen Körpers besitzen, daß also durch die Einbeziehung in ein solches System dem reichlich vorhandenen Lösungsmittel die wesentlichste Eigenschaft des flüssigen Zustandes, die nahezu unbegrenzte Teilchenbeweglichkeit, verloren geht. Wenn wir nun auch im genaueren noch keineswegs vollständig im klaren sind, welcher Art die Beziehungen zwischen Lösungsmittel und disperser Phase dieser kolloiden Systeme sind, so werden wir doch jedenfalls schon aus den mechanischen Eigenschaften dieser Systeme auf eine verminderte Beweglichkeit der Teilchen des Lösungsmittels in ihnen schließen können. Zu diesen quantitativen Beeinflussungen der Beweglichkeit in einer Membran treten nun außerdem noch solche qualitativer Art, da naturgemäß je nach

ihrer Zusammensetzung die Membran die verschiedenartigen sie durchwandernden Teilchen in ungleichmäßigem Grade beeinflussen wird.

Da also die Membran den freien Ausgleich von Ungleichgewichten zwischen zwei Systemen verhindert, so ist die Funktion der Membran erschöpfend gegeben in ihrem Einfluß auf den Vorgang der Diffusion, und es ist, um die Membranfunktionen im einzelnen kennen zu lernen, nur notwendig, die Veränderungen der Diffusion durch die Zwischenschaltung eines Systems von Membranstruktur zu studieren. Die Membranfunktionen sind also identisch mit den Anomalien der Beweglichkeit von Dispersionsmittel und gelösten Substanzen.

Diese normalen Funktionen der Membran, gegeben durch den Zustand und die Zusammensetzung der Membran und der beiden angrenzenden Systeme, werden nun einer Veränderung unterliegen, sobald der Zustand der Membran geändert wird. Denn dann muß sich das einmal gegebene System mitsamt seinen Einflüssen auf die Beweglichkeit von Lösungsmittel und Gelöstem ändern. Änderungen der Membranfunktion haben also zur Vorbedingung Änderungen der Membran selbst.

Nun sei ein Sonderfall eines mit einer Membran versehenen kombinierten Systems angenommen. (Zur Erleichterung des Verständnisses diene die Fig. 3.) Das eine der angrenzenden Systeme A soll nämlich genau dieselbe Beschaffenheit und Zusammensetzung haben, wie das System der Membran M selbst. Dann fällt in Wirklichkeit die eine Grenzfläche der Membran, a, die gegen dieses zweite Grenzsystem gerichtet ist, fort, da ja praktisch das Zwischensystem, die Membran, und das eine Grenzsystem, das voraussetzungsgemäß mit dem der Membran identisch ist, als eines zu betrachten sind ($A = M$). Treten nun Einwirkungen auf, die den Zustand der Membran verändern, so wird von dieser Veränderung zugleich, höchstens mit einem der Richtung der fortschreitenden Veränderung entsprechenden zeitlichen Unterschied, auch das mit ihr identische Grenzsystem A getroffen. Wir haben es also praktisch in diesem

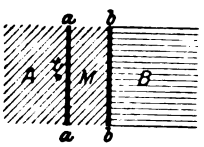


Fig. 3.

vereinfachten Falle nicht mehr mit einer aus drei Systemen zusammengesetzten Kombination zu tun, sondern nur noch mit einer Kombination zweier Systeme, von denen das eine ($A + M$) zwar nicht mehr die Form einer Membran besitzt, aber doch aus einem Membranbildner besteht, d. h. Membranstruktur besitzt. Betrachten wir aber das System von dem Standpunkt eines beliebigen Teilchens, z. B. t, des ursprünglich gesondert vorgestellten einen Grenzsystems A aus, so wird für dieses Teilchen t das ursprünglich ebenfalls getrennt vorgestellte Zwischensystem M nach wie vor, trotzdem die ursprünglich zu fordernde zweite Grenzschicht a des Membransystems in Wirklichkeit gar nicht besteht, als Membran funktionieren müssen. Mit anderen Worten: auch in jeder Kombination von nur zwei Systemen hat ein beliebig herausgegriffener Teil des einen Systems Membraneigenschaften, vorausgesetzt bloß, daß dieses eine der Systeme auch nur die strukturellen Eigenschaften einer Membran besitzt; denn für jeden entfernter liegenden Punkt des so strukturierten Systems fungiert die Gesamtheit aller zwischen diesem ins Auge gefaßten Punkt und dem zweiten System (B) liegenden Punkte des eigenen Systems in jeder Hinsicht als Membran. Es lassen sich aus dieser Feststellung zwei Folgerungen ziehen: erstens kann jede Kombination von nur zwei Systemen, deren eines aber ein Gel ist, unter Umständen als mit einer Membran behaftet betrachtet werden, d. h. es können, ja müssen sogar Membraneigenschaften und Membranfunktionen da berücksichtigt werden, wo eine wirklich abgrenzbare oder gar morphologisch nachweisbare Membran gar nicht existiert, und zweitens können umgekehrt zahlreiche Membranfunktionen, Membraneigenschaften und Vorgänge an Membranen studiert werden an einer einfachen Kombination eines Systems: Membranbildner mit einem zweiten. Aus diesen Erörterungen geht nun am klarsten hervor, welche Antwort in der Frage einer besonderen Abgrenzung von Membrangiften gegeben werden muß: Membrangifte gehören eng zusammen mit Gelgiften, sie lassen sich als Untergruppe dieser keineswegs mit scharfer Grenze absondern, und sie können insbesondere praktisch wegen dieser Unmöglichkeit ihrer Absonderung und aus Zweckmäßigkeitsgründen gemeinsam mit diesen studiert werden. Die Zweckmäßigkeit eines solchen Vorgehens liegt

vor allem darin, daß in vielen Fällen nur mit einer einfachen binären Systemkombination an Stelle der ternären hantiert zu werden braucht, wodurch die experimentellen Schwierigkeiten der künstlichen Herstellung einer solchen ternären Systemkombination umgangen werden, wie sie insbesondere in dem Abschnitt Methodik der vorliegenden Arbeit zutage treten werden.

IV. Allgemeines über Funktionsänderungen von Membranen.

Mit Hilfe der bisher gewonnenen Handhaben lassen sich nun bereits allgemeine Gesichtspunkte über solche Giftwirkungen gewinnen, deren Wesen in der Funktionsänderung von Membranen zu suchen ist. Es läßt sich zunächst sagen, daß Giftwirkungen dieser Art außerordentlich häufig zu erwarten sein werden. Haben wir doch nach den bisherigen Ausführungen derartige Wirkungen nicht nur an solchen Stellen des Organismus zu erwarten, wo der Form nach als Membranen charakterisierte Gebilde nachgewiesen sind oder angenommen werden müssen, sondern auch überall da, wo Gele zu finden sind, deren äußerer Teil ja gegenüber dem inneren Membraneigenschaften anzunehmen befähigt ist. Es muß also an allen Stellen des Organismus mit solchen Wirkungen gerechnet werden, wo entweder Strukturen von der Form von G_1 unseres Anfangsbeispieles[1]) oder von der Form von G_2 vorliegen, und offenbar sind derartige Strukturen nur an den wenigen Stellen des Organismus nicht vorhanden, an denen er ausschließlich aus tropfbar flüssigen Lösungen zusammengesetzt ist, d. h. also so gut wie ausschließlich nur an dem Inhalt des Zirkulationssystems (Blut, Lymphe), selbst hier noch abgerechnet die korpuskulären Elemente der Körperflüssigkeiten. Weiter ist in Rücksicht zu ziehen, daß Änderungen von Membranfunktionen stets zu erwarten sind, wenn Änderungen der Membran ihrer Zusammensetzung oder ihrem Zustande nach eintreten. Nun ist aber bekannt, wie außerordentlich empfindlich gerade in dieser Hinsicht die Substrate der Membranen, die kolloiden Systeme, insbesondere die Gele sind.

Es würde also zweifellos der Rahmen der vorliegenden Arbeit weit überschritten werden, wollte man versuchen, auch

[1]) S. 163.

nur in größeren Zügen die sämtlichen Giftwirkungen der Pharmakologie, die als Membranwirkungen aufzufassen sind, einer kritischen Zusammenstellung zu unterziehen oder gar den experimentellen Beweis für die Häufigkeit eines solchen Zusammenhangs zu liefern. Dies wird vielmehr, da gerade unter solchen Gesichtspunkten die Fragen der Pharmakologie noch wenig bearbeitet worden sind, eine der wichtigsten und lohnendsten Aufgaben für alle die darstellen, die sich ein Studium des feineren Wirkungsmechanismus der pharmakologischen Agenzien zum Ziel gesetzt haben. Es darf nicht unerwähnt bleiben, daß Straub das Verdienst zukommt, eine Reihe pharmakologischer Fragen unter solchen Gesichtspunkten in Angriff genommen zu haben. Die sehr wertvollen Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen hier nicht ausführlicher erwähnt werden, doch sei auf deren Zusammenfassung in dem Vortrag Straubs[1]) verwiesen. Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wird sich darauf beschränken, Membranveränderungen zu studieren, in denen, wie sich erweisen wird, die Wirkungsweise einer einzelnen bestimmten Gruppe von pharmakologischen Agenzien, der indifferenten Narkotica sich erschöpft. Zur Erleichterung des Verständnisses dieser Untersuchungen mögen aber doch einige allgemeinere Gesichtspunkte für die Betrachtung von Membranänderungen vorangestellt werden.

Wie erwähnt, besteht die Leistung einer Membran in dem Einfluß, den sie auf den Ausgleich von Ungleichgewichten zweier durch sie verbundener Systeme ausübt. Handelt es sich bei diesen beiden Systemen um Lösungen mit gleichem Dispersionsmittel, aber ungleicher Zusammensetzung, so wird das die Ausgleichstendenz kennzeichnende Potentialgefälle vor allem eine Diffusion zwischen beiden Lösungen zustande kommen lassen. Die wesentliche Funktion des Membrananteils der Kombination wird dann darin bestehen, daß die Diffusion der im Ungleichgewicht befindlichen Bestandteile in der Membran eine andere ist als in jedem der beiden angrenzenden Systeme. Dieser Einfluß der Membran auf die Diffusion ist das, was schon lange als die wesentlichste Eigenschaft der Membranen erkannt und unter der Bezeichnung elektive Permeabilität

[1]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1913, I, S. 192.

zusammengefaßt worden ist. Die genauere Erkenntnis dieser elektiven Permeabilität hatte jedoch ganz besonders unter den bisherigen Unklarheiten der Membrandefinition zu leiden, und deswegen bestehen gerade über sie die weitgehendsten und verhängnisvollsten Mißverständnisse. An den erststudierten Membranen beispielsweise, den Pfefferschen Niederschlagsmembranen aus Ferrocyankupfer, hatte sich zufällig eine elektive Permeabilität der Art feststellen lassen, daß sie als eine unbehinderte Durchgängigkeit der Membran für das Lösungsmittel bei völliger Undurchlässigkeit für die gelösten Bestandteile gedeutet werden durfte. Diese Art von elektiver Permeabilität — freie Wanderungsfähigkeit des Lösungsmittels, Aufhebung der Diffusionsfähigkeit der gelösten Bestandteile — war folgerichtig als Semipermeabilität bezeichnet worden. Es hat sich aber von diesem ersten Beispiele her vielfach die irrtümliche Auffassung erhalten, als sei gerade diese Art der elektiven Permeabilität ein Charakteristikum vieler Membranen; und umgekehrt hat sich gleichzeitig der Brauch eingebürgert, jegliche Art von Diffusionsbeeinflussung durch Membranen Semipermeabilität zu nennen, woraus sich ohne weiteres eine unabsehbare Fülle von Mißverständlichkeiten ahnen läßt. Diese Auffassung ist ja nur partiell, und zwar insoweit berechtigt, als in der Tat aus prinzipiellen Gründen schon das Lösungsmittel immer schneller permeationsfähig ist als die gelösten Substanzen. Die Differenzen sind also quantitative, nicht qualitative. Die Erscheinung ist eng verknüpft mit der Lyophilie der Membrankolloide; ein festgehaltenes Wasserteilchen wird nämlich leichter durch ein anderes Wasserteilchen ersetzbar sein als durch ein Teilchen einer zweiten Substanz mit geringerer Affinität zum Kolloid. Indes läßt sich auch sogleich erkennen, daß viele Irrtümer vermieden werden können, wenn man sich darüber im klaren bleibt, daß die Durchlässigkeit einer beliebigen Membran eine abhängige Variable der Zusammensetzung und des Zustandes ihres Systems ist. Ein wesentlicher Faktor also für die Beurteilung der Durchlässigkeit einer Membran ist der, daß die Diffusionsfähigkeit in ihr von Membranmaterial zu Membranmaterial wechseln muß. Und der zweite Umstand, der die Diffusionsfähigkeit in einer Membran variieren läßt, ist der jeweilige Zustand einer be-

stimmten Membran von gegebenem Material. Zwar werden sich also aus dem Studium der Beziehungen zwischen Änderung der Wanderungsgeschwindigkeit und Zustandsänderungen einer bestimmten Membran von gegebenem Material gewisse Wahrscheinlichkeitsschlüsse ziehen lassen auf die Änderungen der Diffusion in einer anderen Membran im Falle gleichsinnniger Zustandsänderungen, jedoch wird alles, was an einem bestimmten Membranmaterial sich ergeben hat, nur mit Vorsicht auf ein anderes Membranmaterial übertragen werden dürfen. Nun sind aber in Ansehung der zahlreichen Zusammensetzungsmöglichkeiten die bisher studierten Arten von Membranmaterialien sehr spärlich.

Das am eingehendsten untersuchte Membranmaterial sind die Gelatine-Gele. Hier verdanken wir vor allem den ungefähr gleichzeitigen Untersuchungen von Bechhold und Ziegler[1]) und Peter Nell[2]) einigen Aufschluß.

Bechhold und Ziegler zogen Elektrolyte und Nichtelektrolyte in den Bereich ihrer Untersuchungen. Sie verwendeten als „Membran"-Material neben Gelatine auch Agar-Agar. Zudem versuchten sie auch noch den Einfluß der Anwesenheit einer zweiten dispersen Phase zu studieren, indem sie ihre Gelatine- und Agar-Agar-Gele zuweilen mit Hühnereiweiß vermischten. Bei der Prüfung der Diffusion der Elektrolyte verfuhren sie so, daß sie den Gelen außerdem noch eine geringe Menge eines solchen Reagens zusetzten, das mit dem jeweils diffundierenden Elektrolyten eine Fällungsreaktion gab. Sie beschränkten daher ihre Diffusionsprüfungen mit Elektrolyten auf NaCl und Na_2SO_4, die mit $AgNO_3$ bzw. $BaCl_2$ geprüft werden konnten. Als Nichtelektrolyte wählten sie Farbstoffe (Methylenblau und den roh durch Auskochen gewonnenen Farbstoff der roten Rübe), deren Diffusionsweg mit dem Auge allein gemessen werden konnte. Die Diffusionszeit, nach der abgemessen wurde, wie weit der zu prüfende Stoff diffundiert war, betrug 24 bis 72 Stunden, der Diffusionsweg betrug nach dieser Zeit etwa 10 bis 20 mm. Die Autoren gingen nun noch weiter und prüften außerdem, wie die Diffusionsgeschwindigkeit der in Betracht gezogenen Stoffe durch Zusätze von Elektrolyten und Nichtelektrolyten zu dem Gel beeinflußt würde. Hierbei kamen sie freilich zuweilen nur zu einer Beeinflussung des Diffusionsweges um 0,5 mm. Als weitaus wichtigstes Ergebnis ihrer Untersuchungen hatten sie zu verzeichnen, daß sowohl Gelatine wie Agar-Agar den Diffusionsweg von Elektrolyten und Nichtelektrolyten vermindern. Unter den Zusätzen verminderten Natriumsulfat, Traubenzucker und Glycerin die Durchlässigkeit, Harnstoff vermehrte sie.

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **56**, 105, 1906.

[2]) Drud. Annal. **18**, 323, 1905.

Nell ergänzte seine gleichgerichteten Untersuchungen der Diffusionsbeeinflussung durch Gelatine in wertvoller Weise dadurch, daß er auch die gleichzeitige Leitfähigkeitsbeeinflussung durch Gelatine prüfte. Er fand dabei, daß die Leitfähigkeit der reinen Gelatine je nach ihrer Konzentration variierte, und zwar, daß sie bei einer 18%igen Gelatine gegenüber der 1%igen um ungefähr das zehnfache zunahm. Versetzte er aber Gelatine steigender Konzentration mit 5% Kupfersulfat, so nahm die Leitfähigkeit dieser Kupfersulfatlösung mit steigendem Gelatinegehalt sehr beträchtlih ab und betrug bei 15% Gelatinegehalt nur noch ungefähr $^2/_3$ der Leitfähigkeit der ursprünglichen gelatinefreien Lösung. Berechnete er die Beziehungen zwischen der Diffusionsbeeinflussung und der Leitfähigkeitsbeeinflussung unter Berücksichtigung der Leitfähigkeit der Gelatine selbst, so konnte er feststellen, daß beide sich genau proportional verhielten, mit anderen Worten, er fand, daß Diffusions- und Leitfähigkeitsbeeinflussung von Elektrolyten durch Gelatine identisch sind, und daß man, wenn man eine für eine bestimmte Gelatinekonzentration gültige Diffusionskonstante bestimmt hat, durch diese auf dem Wege der Leitfähigkeitsbestimmung zur wahren Diffusionkonstante gelangen kann.

Es geht also aus diesen beiden Untersuchungen vor allem hervor, daß die Diffusionsgeschwindigkeit auch in sehr wasserhaltigen Gelen schon ganz beträchtlich hinter der in reinem Wasser zurückbleibt. Gleichzeitig läßt sich den Untersuchungen von Bechhold und Ziegler entnehmen, daß auch die Diffusionsgeschwindigkeit in einer ganz bestimmten Membran keineswegs konstant ist, sondern durch manche Zusätze außerordentlich variiert werden kann, und daß die Empfindlichkeit einer Membran gerade hinsichtlich ihrer Permeabilität gegenüber außerordentlich vielen, man kann fast sagen allen Einflüssen eine höchst beträchtliche ist. Am eingehendsten studiert sind die Permeabilitätsänderungen, die Gelatine und biologische Membranen unbekannter Zusammensetzung durch anorganische Ionen erfahren. Die Wirksamkeit dieser Ionen folgt stets der Reihenfolge, die sie nach ihren lyotropen Eigenschaften einhalten. Es sind dies, um die besonders klare Definition Freundlichs[1]) hier zu wiederholen, diejenigen Eigenschaften ihrer Lösungen, die sich nicht auf Grund der van't Hoffschen Theorie der verdünnten Lösungen und der Theorie der Dissoziation erklären lassen, wozu insbesondere die Änderung der Kompressibilität und der Oberflächenspannung eines Lösungsmittels durch

[1]) Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide 11, 257, 1912.

einen gelösten Stoff und die Löslichkeitsbeeinflussung dritter Stoffe gehören. Die Einflüsse solcher Ionen sind nun auch an anderen Membranbildnern untersucht. Ihre Reihenfolge bestätigte sich auch bei der Quellung der Stärke (Samec[1]), des Bindegewebes (Hauberrisser und Schönfeld[2]) und an zahlreichen anderen Gelen. Ist aber schon bei den genannten die genauere Kenntnis des Gels nur mangelhaft, so macht sich dieser Mangel noch mehr bemerkbar bei den anderen Vorgängen an Gelen biologischer Art. Denn solche sind es, die in besonders reichlicher Anzahl als Studienobjekte herangezogen wurden. Die Fülle der gefundenen Tatsachen ist zu groß, als daß hier näher darauf eingegangen werden könnte. Vor allem aber erübrigt sich auch ein solches Eingehen an dieser Stelle deswegen, weil die Gesichtspunkte, die bei diesen Untersuchungen leiteten, von denen, die für unsere Betrachtung wichtig wären, allzusehr abweichen. Denn im wesentlichen wären es „Lebensprozesse", deren Änderung unter dem Einfluß lyotroper Reihen untersucht wurde, und es wurde kaum geprüft, inwieweit es Membranvorgänge im oben umschriebenen Sinne waren und noch weniger, welches das Material der etwa veränderten Membranen gewesen sein könnte. Überhaupt ist die Natur der Vorgänge, die sich an Membranen oder Membranbildnern unter dem Einfluß der lyotropen Reihe abspielen, nur unter sehr einseitigem Gesichtswinkel betrachtet worden. Wie im besonderen die Permeabilität, die Durchwanderbarkeit der Membranen sich verändert, ist nur selten geprüft worden. Die beiden vorher aufgezählten Untersuchungen, die von Bechhold und Ziegler und von Nell, bilden wohl die einzige Ausnahme in dieser Hinsicht. Und ebensowenig wissen wir darüber, wie die Leitfähigkeit der Membran sich unter diesen Einflüssen ändert. Denn den für diese Frage maßgebenden Punkt, wieviel denn von dem beeinflussenden Elektrolyten in die Membran hineingelangt, haben die meisten Autoren vollständig beiseite gelassen.

Nur Hofmeister, dessen klassischen Untersuchungen[3]) wir die ersten und vollständigsten Angaben über die Frage der Beziehungen

[1]) Kolloidchem. Beihefte. **3**, 123, 1912.

[2]) Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakol. **71**, 102, 1913.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **24**, 247, 1887; **25**, 1, 1889; **27**, 395, 1890; **28**, 210, 1891.

zwischen lyotropen Eigenschaften der umspülenden Lösung und Gelatinegelen verdanken, hat sich auch in dieser Hinsicht zu orientieren bemüht. Aus seinen Angaben läßt sich entnehmen, daß für unsere Zwecke die Feststellung einer Änderung des Quellenzustandes keineswegs zur Beantwortung der Frage nach der gleichzeitigen Leitfähigkeitsänderung genügt. Denn die Art der Verteilung des die Zustandsänderung bewirkenden Elektrolyten zwischen Lösung und Gel ist nach seinen Bestimmungen der Konzentrationsänderung der Außenlösung eine äußerst komplizierte. Vor allem können wir eines mit Sicherheit entnehmen, daß nämlich das Eindringen des Elektrolyten in einer von der freien Diffusion sehr differenten Weise vor sich geht. Einen gewissen Aufschluß haben die jahrelangen Bemühungen Wolfgang Paulis und seiner Schule[1]) gebracht. Nach ihren Untersuchungen ist der Vorgang der Elektrolytwirkung insoweit geklärt, als sie enge Beziehungen zu Ionisationsvorgängen der Eiweißmoleküle aufzudecken vermochten. Dadurch erhält natürlich die Leitfähigkeit der Gele ein ganz besonders kompliziertes Aussehen nach der quantitativen Seite hin. Denn wenn einerseits auch die Transportfähigkeit des elektrischen Stromes durch Eiweißionen gegenüber der durch Eiweißmoleküle vergrößert sein wird, so besitzt doch andererseits das anorganische Ion in dieser Bindung voraussichtlich nicht seine gewöhnliche Beweglichkeit. Auch ein zweiter Punkt, dessen Klärung den Bemühungen der Paulischen Schule zu verdanken ist, trägt nicht dazu bei, die Beantwortung der für uns wichtigen Fragen zu erleichtern. Nach Paulis Untersuchungen kommt nämlich dem ionisierten Eiweiß ein höherer Hydratationszustand als dem nichtionisierten zu. Und die Vorstellung von der Art der Beweglichkeit auch der Wasserteilchen eines Gels kann nicht dadurch vereinfacht werden, daß nun auch die Wasserbindung durch Hydratbildung in Rücksicht zu ziehen ist.

Noch viel spärlichere Tatsachen finden wir über den Einfluß der Narkotica auf den Zustand der Membranen vor. Bechhold und Ziegler machen, wie erwähnt, einige wenige Angaben über den Einfluß von Nichtelektrolyten. Allein die von ihnen verwendeten Substanzen, Traubenzucker, Glycerin und Harnstoff, wird man wohl auch bei noch so weiter Begriffsfassung schwerlich zu den Narkoticis rechnen können[2]). Dagegen hat Procter[3]) bei Gelegenheit anderer Untersuchungen wenigstens dem Äthylalkohol einen kurzen experimentellen Abschnitt gewidmet.

---

[1]) Zusammenfassend mitgeteilt: Erg. d. Physiol. 6, 105, 1907, dort die einzelnen Literaturangaben.

[2]) Freilich finden sich vereinzelt Forscher und Schriftsteller, nach deren Auffassung offenbar das Kennzeichen eines Narkoticums die Existenz eines oder mehrerer Kohlenstoffatome in seinem Molekül zu sein scheint.

[3]) Kolloidchem. Beihefte 2, 243, 1911.

Seine Untersuchungen beziehen sich ausschließlich auf Gelatinegallerten und seine Feststellungen beschränken sich darauf, daß deren Quellung durch Zusatz von Alkohol zur Außenlösung sehr wesentlich eingeschränkt wird, daß aber, wenn der Alkohol bei der Herstellung des Gels bereits der erwärmten Gelatinelösung zugemischt wurde, eine solche alkoholartige Gallerte viel stärker in Wasser quoll als eine alkoholfreie von der gleichen Gelatinekonzentration. Vor allem aber konnte er kein Eindringen des Alkohols in die in alkoholhaltiger Lösung quellende Gelatine nachweisen.

Allein wie die Teilchenbeweglichkeit sich unter dem Einfluß des Alkohols ändert oder gar, welchen Einfluß in dieser Hinsicht andere Narkotica ausüben, ist unseres Wissens nie studiert worden.

Selbst über die Membranen, die etwa im Organismus dem Einfluß der Narkotica unterliegen könnten derart, daß daraus die Narkose resultiert, sind die Meinungen noch vollständig im Widerstreit. Man könnte hier wohl die Selbstverständlichkeit wiederholen, daß die Narkose eine sehr allgemeine Erscheinung der lebenden Materie ist. Und man könnte daraus ableiten, daß sie ein ebenso allgemein verbreitetes Substrat besitzen muß. Allein es müßten solche Überlegungen sämtlich auf den Begriff des Protoplasmas zusteuern, und man würde so auf einem Wege wandern, der nicht viel Aussichten bietet, zum Ziel zu gelangen. Denn wenn man wohl auch ziemlich allgemein das Protoplasma als ein Gel oder wenigstens als mit zahlreichen Komponenten von Gelbeschaffenheit ausgestattet auffaßt, so wird man doch über die Natur dieser Gele nichts weiter aussagen können, als daß sie eine sehr komplizierte und wechselnde sein muß. Auch die vielfach aufgestellte Hypothese einer besonderen und in allen Zellen gleichmäßig vertretenen Partie des Protoplasmas, die Annahme einer sogenannten Plasmamembran, kann nicht wesentlich fördern. Gewiß wird eine solche für alle Zellen so allgemein und gleichartig angenommen, daß sie, wenn ihre Existenz erwiesen wäre, sehr wohl das Substrat des zur Narkose führenden Vorgangs bilden könnte. Allein weit davon entfernt, daß auch nur ihre Existenz irgendwie sichergestellt wäre, sind auch über die Beschaffenheit dieses hypothetischen Gebildes die Meinungen so zahlreich wie die Möglichkeiten. Der Begriff der Plasmamembran entstand unter den Botanikern, die sie an ihren Untersuchungsobjekten, den

Pflanzenzellen, morphologisch und auch funktionell in der Tat mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit nachzuweisen vermochten. Die Übertragung dieser botanischen Tatsachen führte dann im Verein mit ähnlichen allgemeinen Überlegungen, wie sie oben ausgeführt wurden, Overton[1]) dazu, auch über ihre Beschaffenheit eine hypothetische Vorstellung zu bilden. Die Beobachtung, daß die Plasmolyse der Pflanzenzellen durch narkotisch wirkende Stoffe im allgemeinen schwerer zu bewirken ist als durch Nichtnarkotica, ließ ihn annehmen, daß die Plasmamembran für Narkotica leicht durchlässig, für Nichtnarkotica dagegen undurchlässig sei. Und da die Narkotica sämtlich leicht in Olivenöl löslich sind, die Nichtnarkotica dagegen im allgemeinen unlöslich, vielleicht auch noch, weil ihn außerdem die Fähigkeit des Öls, dünne und ausgedehnte Oberflächenhäutchen zu bilden, verführte, stellte er sich die Zellen von einer ölartigen Hülle umgeben vor. Und als die ölartigen Substanzen, die im Organismus hierfür in Betracht kämen, glaubte er Stoffe wählen zu dürfen, denen er diese Eignung insbesondere dadurch zuerteilte, daß er ihnen den Namen Lipoide gab. Das gemeinsame Charakteristikum dieser Stoffe war ihre Extrahierbarkeit aus getrockneten Organen durch organische Lösungsmittel, wie Alkohol, Äther, Chloroform. Es war sehr naheliegend, sich diese Stoffe in ihren Extraktionsmitteln gut löslich vorzustellen und darin eine Analogie mit den Fetten und Ölen zu sehen. Weniger naheliegend schon war die Annahme, daß diese Stoffe nun auch ihrerseits die gleiche Verwendbarkeit als Lösungsmittel besitzen müßten als etwa die Öle. Und doch wurde diese Voraussetzung ohne große Prüfung nicht nur von Overton für ohne weiteres berechtigt gehalten, sondern auch in einer gleichzeitigen Untersuchung von Hans Horst Meyer[2]) zur Grundlage seines ganzen experimentellen Vorgehens gemacht. Auch er dachte daran, daß die Eignung der narkotisch wirkenden Flüssigkeiten Alkohol, Äther und Chloroform zu Extraktionsmitteln für Lipoide den Schlüssel zur Erkenntnis des Wesens ihrer narkotischen Wirkung liefern könnte. Und auch er gelangte auf Grund der

[1]) Vierteljahrsschr. d. Naturf.-Ges. Zürich **44**, 88, 1899. — Studien über die Narkose, Jena 1901.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **42**, 109, 1899. — F. Baum, ebd. S. 119.

gleichen unzureichend begründeten Assoziation wie Overton dazu, sich das Substrat der Narkosevorgänge als eine Oberflächenschicht der Zelle von ölartiger Beschaffenheit und gebildet aus Lipoiden vorzustellen. Die Funktion dieser Oberflächenschicht bei der Narkose sollte eine Lösungsmittelfunktion gegenüber dem Narkoticum sein, und es handelte sich also bei allen diesen Vorstellungen um die Aufstellung folgender für die Biologie höchst wichtiger, aber, wie wir schon gesehen haben, höchst hypothetischer Begriffe: 1. Die Zelle ist umgeben von einer Schicht aus heterogenem Lösungsmittel; 2. diese heterogenen Lösungsmittel, die einzigen, über die der Organismus verfügt, sind die Lipoide; 3. ihre Lösungsmittelfunktion üben sie insbesondere an den narkotischen Stoffen aus, die sich zwischen ihnen und Wasser mit einem hohen Teilungskoeffizienten verteilen. Nach diesen Vorstellungen wäre also die Plasmamembran aus heterogenem Lösungsmittel gebildet, daher eine Lösungsmittelmembran, also keine Membran nach der in den früheren Abschnitten ausgeführten Definition. Diese Anschauung von der Natur der Plasmamembranen wurde nun von vielen Seiten und in der verschiedenartigsten Weise bestritten. Der weitgehendste Einwand war der, daß eine derartig differenzierte Membran der Zelle überhaupt nicht vorhanden sei, es sei denn höchstens an der Pflanzenzelle. Der schwerwiegendste Einwand gegen die Zusammensetzung dieser Membran im besonderen war aber naturgemäß der ihrer funktionellen Undenkbarkeit. Denn es ist kaum anzunehmen, daß die lebende und zweifellos mit ihrer näheren und ferneren Umgebung im regen Stoffaustausch befindliche Zelle von einer Hülle umgeben sein könne, die nur den höchst unphysiologisch wirkenden, narkose-herbeiführenden Stoffen den Eintritt in die Zelle gestatte, allen anderen dagegen, deren Eintritt als Nährstoffe oder Austritt als Schlacken oder Sekrete ein unbedingtes Erfordernis des Lebens ist, den Zutritt verwehre. Die Kompromißvorstellung, die aus diesem Einwande erwuchs, fand sich zwar mit der Existenz und der Wirkungsweise der lipoiden Zellmembran widerspruchslos ab, dachte sich aber die lipoiden Komponenten der Zellmembran mosaikartig zusammengefügt mit nichtlipoiden eiweißartigen Anteilen, denen — so wie den Lipoiden der Hin- und Hertransport der Narkotica — die Ein-

und Ausfuhr der wasserlöslichen Stoffe zukomme. Während aber Vorstellungen dieser Art die Möglichkeit einer zeitlichen Variierung der Durchlässigkeit der Grenzschicht der Zelle unberücksichtigt lassen, zog Höber[1]), immer im Rahmen der Lipoidtheorie, auch diese in Betracht. Er nahm an, daß es, unbeschadet der durch die hypothetischen Lipoidfunktionen umschriebenen Durchlässigkeitseigenschaften der Zellmembran, noch weitere „vitale" Funktionen der Zellmembran gäbe, die die innerhalb des Zellebens auftretenden Abweichungen umfassen sollten. Die gesamten Vorstellungen von einer Beteiligung der Lipoide an den Funktionen der Grenzschicht wurden von Ruhland[2]) bestritten, der zeigte, daß die Einwanderung von Farbstoffen in die Zelle sich in der gleichen Weise abspielt, wie die Wanderung der gleichen Farbstoffe in einem einfachen Gelatinegel.

Bei sämtlichen Erörterungen für und wider die Lipoidhypothese ist aber vor allem eines zu vermissen. Alle Autoren, auch die lebhaftesten Bekämpfer der Lipoidtheorie, gehen immer von der Frage aus, warum denn ein Stoff überhaupt in die Zelle eindringt. Diese Art der Fragestellung erscheint einigermaßen verfehlt von Grund aus. Man vergegenwärtige sich, daß mit einziger Ausnahme der Fettgranula und der Hornzellen der Haut im ganzen Organismus nirgends Stellen zu finden sind, von denen zu bestreiten wäre, daß darin entweder gleichmäßig oder doch zum mindesten nur mit Unterbrechungen von in jeder Dimension äußerst geringer Periode als gemeinsames Lösungsmittel das Wasser zu finden sei. Insbesondere ist von vornherein die Annahme am naheliegendsten, daß die Kontinuität dieses Lösungsmittels im Organismus nirgends eine Unterbrechung erleidet. Wird aber die Kontinuität dieses allgemeinen Durchtränkungsmittels zugegeben, so ist damit auch die allgemeine Ausbreitungsfähigkeit aller in diesem Lösungsmittel gelösten und wanderungsfähigen Stoffe im Prinzip eingeräumt. Und es ist dann die ganze Fragestellung der Verfechter wie der Bekämpfer der Lipoidtheorie verfehlt. Denn es wäre nicht zu fragen, warum die Stoffe in die Zelle eindringen, sondern warum die Stoffe nicht eindringen, d. h. aus

[1]) Zusammengefaßt in: R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle, Leipzig 1911.

[2]) Jahrb. f. wissensch. Botanik 51, 376, 1912.

welchen Gründen überhaupt eine quantitative und qualitative Elektivität in der Verteilung der Stoffe innerhalb der verschiedenen Teile dieses gleichen Lösungsmittels statthat. Und dann muß die Beantwortung immer an die Überlegung anknüpfen, die wir oben hinsichtlich des Membranbegriffs in weiterem Sinne angestellt haben. Denn in Ansehung der Gelnatur des größten Teiles des Organismus wird die ungleiche Verteilung der Stoffe, die an sich bestrebt sind, sich über alle Teile des mit dem gleichen Lösungsmittel durchtränkten Organismus durch Diffusion gleichmäßig zu verbreiten, stets in erster Reihe mit den bisher ausführlich behandelten, der Tatsache nach bekannten, wenn auch dem feineren Mechanismus nach erst teilweise geklärten Fähigkeiten der Gele in Zusammenhang gebracht werden müssen, daß sie nämlich trotz ihrer Durchtränkung mit dem Lösungsmittel ihrer Umgebung einen besonderen und wechselnden Einfluß auf die Beweglichkeit der Stoffe auszuüben vermögen. Sucht man sich also vorzustellen, wie die membranartigen Gebilde des Organismus beschaffen sind, mit denen eine zur Narkose führende Reaktion der Narkotica eintreten könnte, so kann man allem dem, was an der Hand der Lipoidhypothese erörtert worden ist, nur eines entnehmen: Sie hat das Verdienst, auf die Wichtigkeit der Lipoide, die zuvor nie mit besonderen Funktionen des Organismus in Beziehung gebracht werden konnten, hingewiesen zu haben. Sie verwertete zum ersten Male die Erscheinung, daß die Lipoide ein ständiger Bestandteil der Substrate des Lebens sind, daß sie überall im Organismus, wenn auch in sehr wechselnder Menge, zu finden sind. Nach der Art ihrer Verteilung sind sie also, wenn man von den Salzen absieht, in erster Reihe den Eiweißkörpern an die Seite zu stellen. Auch eine zweite Eigentümlichkeit läßt eine Parallele zwischen den Lipoiden und den Eiweißkörpern ziehen. Schon früh wurde nämlich ihre Fähigkeit erkannt, in wässerigen Lösungsmitteln kolloide Lösungen zu bilden. Und nicht nur in Hinsicht auf die Kolloidnatur ihrer wässerigen Lösungen gleichen sie den Eiweißkörpern, sondern die Ähnlichkeit ihrer Lösungsbeziehungen zum Wasser mit denen der Proteine geht so weit, daß sie, wie dies zuerst von Porges und Neubauer[1]) hervorgehoben wurde, auch

[1]) Diese Zeitschr. 7, 152, 1907.

die Eigenschaft der Lyophilie mit jenen teilen; dies aber ist die Vorbedingung einer Befähigung zur Gelbildung. Wenn also zuweilen die Neigung besteht, sich die Eiweißkörper als die hauptsächlichste Komponente der in den belebten Organismen vorkommenden Gele vorzustellen, so wird man bei solcher Ähnlichkeit in physikalisch-chemischer Hinsicht wohl auch den Lipoiden einen Platz in diesen Gelen zuweisen müssen. Es ist daher nichts näher liegend, als sich jene Gele — das „Protoplasma" — als mit mindestens zwei dispersen Phasen, einer proteiden und einer lipoiden, ausgestattet vorzustellen. Die Annahme einer solchen Mehrheit von dispersen Phasen kann nicht etwa als eine von Grund auf neue Vorstellung Schwierigkeiten begegnen, denn die gleiche Annahme mußte ja auch bisher schon immer gemacht werden, sobald man sich klar machte, daß die disperse Phase dieser Gele doch wohl nur höchst selten, auch wenn man nur Eiweißkörper als ihre Komponenten in Rechnung zieht, von einem einzigen Eiweißkörper gebildet wird. Freilich ist bei einer solchen Annahme der Existenz mehrerer disperser Phasen im Gel, mögen diese nun ausschießlich verschiedene Eiweißkörper oder außerdem noch Lipoide sein, die Möglichkeit mit eingeschlossen, daß diese chemisch verschiedenen Teilchen nicht einfach unabhängig voneinander in die Struktur des Gels eingereiht sind, sondern untereinander in Reaktionen der verschiedensten Art treten können. Es stellt das eine weitere Gruppe der vielfältigen Variationsmöglichkeiten dar, auf deren Basis allein das Zustandekommen der Lebenserscheinungen denkbar ist.

Diese Ausführungen wollen keineswegs den Anspruch der Neuartigkeit erheben. Sie sind die Summe alles dessen, was anläßlich der Erörterungen über die Eigenschaften der Zellmembran ventiliert worden ist. Den Versuch eines Nachweises dieser Koexistenz von Eiweiß und Lipoiden hat Lepeschkin[1]) unternommen. Er verglich die Konzentrationen der wässerigen Lösungen schlecht wasserlöslicher und gut öllöslicher anästhesierender Stoffe, die die Koagulation der Plasmamembran der Pflanzenzelle hervorrufen, mit denjenigen, die Hühnereiweiß koagulieren. Dabei fand er, daß zur Koagulation der Plasma-

[1]) Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 29, 247, 1911.

membran viel geringere Konzentrationen notwendig sind, als die, das Hühnereiweiß zum Koagulieren zu bringen. Da er die Voraussetzung machte, daß die öllöslichen Stoffe sich in der Plasmamembran anreichern müssen, wenn diese ölartige Bestandteile, zu denen er auch die Lipoide rechnet, enthält, so konnte er aus seiner Feststellung den Schluß ziehen, daß in der Plasmamembran außer Wasser und Eiweißkörpern in der Tat auch derartige „ölartige" Körper vertreten sind. Wenn wir auch vor allem aus Gründen, die sich weiter unten ergeben werden, nicht alle Teile von Lepeschkins Ideengang als richtig anerkennen können, so dürfen wir doch seine Ausführungen soweit verwerten, als auch nach ihnen die reine Eiweißnatur der Plasmamembran sehr unwahrscheinlich wird; in Ansehung der Beziehungen, die die von ihm verwendeten „öllöslichen" Stoffe in der Tat nach allem, was wir sonst wissen, zu den Lipoiden haben, wird deren Anwesenheit in der Plasmamembran auch auf diesem Wege mahrscheinlich gemacht. Und daß diese zunächst für die Plasmamembran geltenden Untersuchungen in diesem Falle auch eine weitere Ausdehnung zulassen, dafür kann eine Äußerung desselben Autors in der gleichen Mitteilung[1]) angeführt werden, in der ähnliche Ansichten geäußert sind, wie wir sie anläßlich der Besprechung der Ausdehnbarkeit des Membranbegriffs auf Gele überhaupt ausgeführt haben. Er sagt dort nämlich: „Da es uns aber zurzeit unbekannt ist, ob diese Schichten (nämlich die Plasmamembran) sehr dünn sind, oder die ganze Plasmamasse bilden, so würden sich alle Schlüsse . . . auf das Dispersionsmittel des Protoplasmas beziehen können, wenn es erwiesen sein würde, daß das Protoplasma in allen seinen Teilen die gleichen osmotischen Eigenschaften besitzt."

Schließlich kann als Beleg für die Beteiligung der Lipoide an den Gelen des Organismus auch die Zusammenfassung angeführt werden, in welcher Höber[2]) seine Stellung zum Permeabilitätsproblem formuliert: „Es ist anzunehmen, daß der physiologische Import und Export ein komplizierter unanalysierter, an die Lebenstätigkeit der Zelle gebundener Vorgang in der Zelloberfläche der Plasmahaut ist. Dieser Vorgang setzt meist

[1]) l. c. S. 248.
[2]) l. c. S. 264.

nur unter bestimmten Bedingungen ein; diese sind uns noch nicht genügend bekannt Es ist nicht anders denkbar, als daß für solche Aktion der Plasmahaut eine komplizierte Organisation erforderlich ist. An diesem Aufbau nehmen u. a. auch Lipoide teil." Lassen wir aus dieser Zusammenfassung alles beiseite, was man ihr über die problematische Existenz der Plasmahaut im engeren Sinne entnehmen könnte, so wird man doch im Einklang mit Höber den Lipoiden einen Platz in den für die Verteilung der Stoffe maßgeblichen Substraten einräumen müssen, welcher Meinung auch immer man über den Umfang ihrer Beteiligung an diesem Verteilungsvorgang sein mag.

V. Theorien der Narkose.

Haben die bisherigen Betrachtungen ergeben, daß bei einer Prüfung etwaiger Membranwirkungen der Narkotica eine Beteiligung der Lipoide an der Zusammensetzung der beeinflußten Membranen sehr wohl in Rücksicht gezogen werden muß, so ist nun der Frage näher zu treten, wo denn eine Membrantheorie der Narkose einzusetzen hat und in welcher Weise sie sich mit den bisherigen Theorien ins Einvernehmen setzen muß. Wenn wir also auch, wie bei den bisherigen Betrachtungen, in Hinsicht auf den Umfang des Stoffes nur sehr kursorisch verfahren können, so müssen doch an dieser Stelle die bisher aufgestellten Theorien von der Wirkungsweise der Narkotica einer kurzen Durchsicht unterzogen werden. Bemerkenswerterweise spielen bereits bei der ältesten Narkosetheorie die Lipoide eine Rolle. Bibra und Harleß knüpften bereits im Jahre 1847 an die Extrahierbarkeit der Lipoide durch organische Lösungsmittel, die narkotische Fähigkeiten besitzen, an. Sie stellten sich den Narkosevorgang in Analogie mit dieser Erscheinung so vor, daß auch bei ihm eine Extraktion der Lipoide aus dem Nervensystem, in dem sie bekanntlich besonders reichlich vorhanden sind, stattfinde, und daß diese Lipoidentziehung das Wesen der Narkose bilde. Die Unzulänglichkeit einer solchen Auffassung ergibt sich ohne weiteres, wenn man sich die Reversibilität des Narkosevorgangs klar macht; die rasche restitutio ad integrum, die nach der Narkose eintritt, ist offenbar mit einem so irreversiblen Vorgang, wie es die Ausschwemmung von schwer zu erneuernden Organbestandteilen wäre, nicht ver-

einbar. Eine gewiß sehr unvollkommene, allein in ihrer unerkannten Bedeutung später noch zu beleuchtende Idee entwickelte R. Dubois, der u. a. Analogien zwischen der Wirkung der Narkotica an lipoiden Strukturen und der Verdrängung des Wassers durch Alkohol in einem Kieselsäuregel konstruierte. Die „experimentell am sichersten fundierte" Theorie freilich, wie z. B. Poulsson[1]) meint, ist die zu einem Teil bereits angeführte Theorie von Meyer und Overton. Auch sie supponiert, wie wir bereits gesehen haben, eine Beteiligung der Lipoide. Allerdings haben die Schöpfer der Theorie sie wohl selbst kaum als eine erschöpfende Vorstellung von dem Narkosevorgang betrachten können. Sie glaubten freilich bis zu dem Punkt sicher zu sein, daß die narkotisch wirkenden Stoffe an den Stellen des Organismus in höherer Konzentration angereichert werden, an denen sich Gebilde, sei es von Membranform, sei es von beliebiger anderer Gestalt, sich befinden, die nach ihrer Ansicht ein heterogenes Lösungsmittel mit für die Narkotica günstiger Lösefähigkeit darstellen sollten. Nach Overton kam aber diesem heterogenen Lösungsmittel eine weitgehende Undurchgängigkeit für alle lebenswichtigen Stoffe schon an sich zu. Wie nun aber durch die Auflösung einer kleinen Menge eines zweiten Stoffs in Teilen des Organismus von solcher Lösungsmittelnatur eine deprimierende Wirkung auf Lebensprozesse zustande kommen soll, das haben Meyer und Overton nicht genauer darzulegen vermocht, noch auch versucht. Und sobald man mit den Autoren, die die Meyer-Overtonsche Theorie allmählich umgemodelt haben, annimmt, daß die Lipoide — das sind jene heterogenen Lösungsmittel — nur gewisse Teile eines die Zelle umgebenden Mosaiks darstellen, so ist wiederum in keiner Weise einzusehen, wie eine Lähmung der Zelle zustande kommen soll dadurch, daß die auch sonst schon für alle lebenswichtigen Stoffe unzugänglichen Teile des Mosaiks während der Narkose eine etwas anders als in der Norm zusammengesetzte Lösung darstellen. Es ist also zunächst schon offensichtlich, daß diese „experimentell bestfundierte" Theorie gar keine Theorie der Narkose sein kann, sondern höchstens als eine Theorie der Zuführungsart der Narkotica zur Zelle be-

[1]) Lehrb. d. Pharmakol., 2. Aufl., Leipzig-Christiania 1912, S. 7.

zeichnet werden könnte. Selbst dies aber mit Unrecht; denn es sollen ja die diese Zuführung vermittelnden Lipoide der Zellmembran Lösungsmittel sein und nach dem Henryschen Verteilungssatz fungieren; wenn das aber der Fall ist, so müßten sie an die Zelle die Stoffe in genau der gleichen Konzentration wieder abgeben, in der sie sie in der Außenlösung antrafen, aus der die Stoffe vermöge ihrer höheren Lipoidlöslichkeit in die hypothetische Lipoidmembran hineingewandert sind. Kurz, derartige Lipoidmembranen vermöchten die Konzentration in der Zelle nicht höher zu gestalten, als sie in der Außenflüssigkeit ist, und ein solcher Effekt käme auch ohne ihre Existenz bei einfacher und unbehinderter Diffusion in die Zelle zustande. Ein Ausbau zu einer wirklichen Theorie der Narkose selbst ist nur von dem einen der beiden Schöpfer der Lipoidtheorie versucht worden. Hans Horst Meyer meinte, daß die das Narkoticum gelöst enthaltenden Lipoide aufgelockert werden, und daß daraus eine erhöhte Durchlässigkeit der lipoiden Schichten resultiert[1]). Zur Begründung dieser Anschauung kann er freilich nur sehr wenig verbindliche Vermutungen anführen; es wird darauf in einem spätereren Abschnitt noch ausführlicher einzugehen sein.

Eine gänzlich andersartige und auf vollkommen differente Tatsachen gestützte Theorie der Narkose ist von Verworn[2]) gebildet worden. Er knüpfte an die durch seine Schule studierte Erscheinung an, daß die Vorgänge der Narkose und der Erstickung eine gewisse Ähnlichkeit haben. Er hält einen Sauerstoffmangel, der unter dem Einfluß des Narkoticums eintreten soll, für das Wesen der Narkose, wiewohl dieser Sauerstoffmangel in dem Mechanismus seines Zustandekommens nicht weiter analysiert wird. Diesem Bedürfnis suchte Mansfeld[3]) durch eine Verquickung der Verwornschen und der Meyer-Overtonschen Theorie abzuhelfen. Der Lösungskomplex Lipoid-Narkoticum, der gemäß der Meyer-Overtonschen Hypothese entsteht, soll nach ihm ein geringeres Lösungsvermögen für Sauerstoff besitzen, als das reine Lösungsmittel, das Lipoid allein. Es ist dagegen geltend zu machen, daß nach dem

[1]) Münch. med. Wochenschr. **56**, Nr. 31, 1909.

[2]) Narkose, Jena 1912.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **129**, 69, 1909.

Henry-Daltonschen Gesetz, das ja gerade hier Geltung haben müßte, zwei gelöste Substanzen sich in ihrer gegenseitigen Löslichkeit, zumal wenn es sich bei beiden nur um so geringe Konzentrationen handelt, nicht im geringsten beeinflussen werden. In der Tat hat Mansfeld auch einen experimentellen Nachweis für die Richtigkeit seiner Vorstellung nicht erbracht. Wie Mansfeld mit physikalisch-chemischen Mitteln, so versuchte Bürker[1]) auf Grund von chemischen Vorstellungen eine Kompromißvorstellung zwischen den Verwornschen und den Meyer-Overtonschen Hypothesen zu bilden. Er glaubte, daß die Narkotica zwar zunächst infolge ihrer großen Lipoidlöslichkeit in die Zellen aufgenommen werden, erst dort aber ihre eigentliche Tätigkeit entfalten, die darin bestehen soll, daß sie nun den Zellen Sauerstoff entziehen. Diese Vorstellung fällt selbstverständlich, sobald sich zeigen läßt, daß narkotische Fähigkeit und Oxydierbarkeit, wie dies doch offensichtlich der Fall ist, in keinerlei Beziehung zueinander stehen; es braucht z. B. nur an die Kohlenwasserstoffe erinnert zu werden, die trotz ihrer chemischen Unangreifbarkeit starke Narkotica sind. Es lassen sich aber überhaupt gegen die ganze Verwornsche Erstickungstheorie eine Anzahl sehr eindringliche Gegenexperimente anführen. Zunächst fand nämlich Warburg, daß in den befruchteten Seeigeleiern durch die Narkose die Kern- und Zellteilung vollkommen sistiert werden kann, ohne daß der Sauerstoffverbrauch irgendwie abnimmt. Weiter konnte Winterstein[2]) demonstrieren, daß anoxybiotische Würmer (Askariden), die sich schon physiologischerweise in einem sauerstoffarmen Medium, also in einem ständigen „Erstickungszustand" befinden, der Wirkung der narkotischen Stoffe genau wie sauerstoffbedürftige Organismen unterliegen; es kann bei ihnen deren Wirkung also unmöglich in einer Hemmung der Sauerstoffzufuhr begründet sein.

Wenn nun also auch die übrigen Theorien der Narkose nicht eben als besonders gut begründet zu bezeichnen sind, so kann man doch auch das nicht anerkennen, was Höber[3]) von der Meyer-Overtonschen Theorie schreibt, daß nämlich „bisher

[1]) Münch. med. Wochenschr. 57, Nr. 27, 1910.
[2]) Diese Zeitschr. 51, 143, 1913.
[3]) l. c.

wohl nur ganz wenige Vorstellungen in der Physiologie an der Hand eines so reichhaltigen Beobachtungsmaterials, wie es die diosmotischen Untersuchungen repräsentieren, entwickelt worden sind". Er meint nämlich nicht zuviel zu sagen, wenn er behauptet, daß der Zusammenhang zwischen Narkose und Lipoidlöslichkeit feststehe. Aber wenn man auch von den Einwänden absieht, die andere Autoren, wie dies im vorigen Abschnitt angedeutet wurde, gegen die Vorstellung von der rein lipoiden Plasmahaut vorgebracht haben, so ist doch die ganze Theorie von Grund aus hinfällig, sobald ihre Fundamentalbehauptung, die der Lipoidlöslichkeit der narkotischen Stoffe, als unrichtig erwiesen werden kann. Diesem Nachweis war nun eine Reihe eigener Untersuchungen[1]) gewidmet. In ihnen wurde nämlich zunächst gezeigt, daß die Lipoide nicht die Fähigkeit besitzen, als Lösungsmittel für irgendwelche Substanzen, im besonderen für Narkotica, zu fungieren. Nun kam ja der Begriff des Verteilungskoeffizienten in den Untersuchungen, welche die Meyer-Overtonsche Theorie stützten, außerordentlich häufig vor. Das reiche Beobachtungsmaterial, von dem Höber spricht, kommt nicht zuletzt in einer großen Reihe von Zahlen zum Ausdruck, deren jede einen Verteilungskoeffizienten irgendeiner narkotischen Substanz zwischen Wasser und Lipoid ausdrückt. Wenn also die Grundlagen dieses Materials stimmten, so wäre in der Tat kein Zweifel möglich, daß die Verteilung der Narkotica zwischen Wasser und Lipoid sich nach dem Henryschen Verteilungssatze regele. Der Henrysche Verteilungssatz sagt nun zweierlei aus: 1. daß ein Stoff sich in einem bestimmten Verhältnis zwischen zwei Lösungsmitteln verteilt, zweitens aber auch, daß dieses Verhältnis der Verteilung ceteris paribus unabhängig von der Konzentration des zu verteilenden Stoffes konstant bleibt. Und wenn man darauf hin diese vielen Verteilungskoeffizienten ansah, so stellte sich heraus, daß keiner von ihnen den Bedingungen der zweiten Forderung des Henryschen Verteilungssatzes genügte. In den meisten Fällen war vielmehr Behauptung und Voraussetzung in der Weise verquickt worden, daß der Autor dadurch der Mühe enthoben war, das Verhalten der Verteilung bei wechselnder Konzen-

[1]) Diese Zeitschr. **42**, 150, 190, 205 u. 207, 1912; sowie Kolloid-Zeitschr. **11**, 179, 1912.

tration prüfen zu müssen. Anstatt festzustellen, daß die Kurve der Abhängigkeit der aus dem einen Lösungsmittel in das andere aufgenommenen Stoffmenge von der Konzentration eine lineare ist, wurde einfach der Quotient aus der aufgenommenen und zurückgebliebenen Menge für einen bestimmten Punkt der Kurve ermittelt und dieses Verhältnis auf Grund einer höchst unstatthaften Interpolation zwischen dem Nullpunkt und einem einzigen experimentell ermittelten Punkte als Verteilungskoeffizient ausgegeben. In den wenigen Fällen, in denen für die Konzentrationskurve der Verteilung wenigstens zwei Punkte ermittelt worden waren (Baum[1]), ließ sich durch Nachrechnung feststellen, daß die resultierenden Kurven keineswegs linear verliefen, sondern eher als anomale Adsorptionsisothermen gedeutet werden konnten. Vor allem aber ergab eine sorgfältige Ermittelung solcher Konzentratioskurven für die Verteilung angeblich lipoidlöslicher Stoffe zwischen Wasser und Lipoid, daß es sich stets um logarithmische Kurven handelte, und daß die Berechnung der gefundenen Werte nach der Formel der Adsorptionsisotherme

$$\frac{x}{m} = k\, c^{\frac{1}{n}}$$

sehr gute Übereinstimmung ergab. Wenn auch eingeräumt wird, daß die angegebene Formel eine so weitgehende Anwendung auf die verschiedenartigsten Vorgänge zuläßt, daß ihre Anwendbarkeit allein nicht ohne weiteres erlaubt, den untersuchten Vorgang als Adsorption zu kennzeichnen, so sprachen doch in den Fällen der Verteilung zwischen Lipoid und Wasser zahlreiche Umstände für die Richtigkeit einer solchen Deutung im Sinne einer Adsorption. Zunächst ist die Reversibilität der Bindung der Narkotica an Lipoide eine unbestrittene Tatsache. Weiter wurden die Versuche, in denen die Kurven ermittelt wurden, unter Bedingungen unternommen, bei denen die Lipoide in kolloider Verteilung vorlagen, so daß die auch sonst als hervorstechende Eigenschaft kolloider Teilchen bekannte Adsorbierbarkeit dritter Stoffe an ihrer Oberfläche auch hier mit zum Beweise herangezogen werden konnte. Schließlich

[1]) l. c.

aber deckten sich die Werte für den Exponentialfaktor $\frac{1}{n}$ ganz genau mit denjenigen, die für die Farbstoffadsorption an andere Adsorbentien vorliegen, deren starke Adsorptionsfunktion außer Zweifel steht. Zu diesen direkten Beweisen dafür, daß die Lipoide die sogenannten lipoidlöslichen Stoffe nicht mit Hilfe von Lösungsbeziehungen, sondern nur durch ihr Adsorptionsvermögen an sich „binden", wurden nun noch indirekte Beweise hinzugefügt, die aus dem Studium der Lösungen der Lipoide in den narkotisch wirkenden organischen Lösungsmitteln abgeleitet waren. Die genauere Prüfung dieser Lösungen ließ nämlich aus allen ihren Eigenschaften mit Sicherheit feststellen, daß es sich den Dispersitätsgraden nach niemals um molekulardisperse Systeme handelte, sondern daß die Lipoidlösungen im organischen Lösungsmittel stets kolloid-disperse Systeme darstellten, deren disperse Phase die Eigenschaften eines lyophilen Kolloids besitzt. Diese lyophilen Kolloide sind nun dadurch ausgezeichnet, daß sie zwar mit ihrem Lösungsmittel keinen molekularen Lösungskomplex bilden, aber doch jeweils mit einem Teil des Lösungsmittels in engere Beziehungen treten. Sie unterscheiden sich dadurch, wenn auch im letzten Grunde nur quantitativ, so doch sehr bedeutend von den lyophoben Kolloiden, deren Teilchen nach der kolloiden Dispersion im Lösungsmittel nur eine sehr unbedeutende Schicht desselben auf adsorptivem Wege an ihrer Oberfläche gebunden halten. Im Gegensatz hierzu ist die Affinität zum Lösungsmittel bei den lyophilen Kolloiden eine sehr große.

Das Wesen der Lyophilie ist, wie wir bereits in einem anderen Zusammenhange in dieser Mitteilung betont haben, noch keineswegs vollständig geklärt.

Es möchten wohl verschiedene Vorgänge zur Erklärung herangezogen werden, von denen jeder einzelne allein oder mit anderen kombiniert je nach der Natur des dispersen Teilchens das Wesen der Erscheinung bilden dürfte. Einer dieser Vorgänge ist an den kolloiden Systemen, deren disperse Phase das Eiweiß bildet, näher studiert worden und dürfte in der Tat zur Erklärung der Hydrophilie der Proteinsole und -Gele weitgehendst heranzuziehen sein. Es handelt sich in diesen Fällen um die früher schon erwähnte Bildung von Eiweißionen, deren Hydratisierungsvermögen sehr hoch ist, so daß das von diesen ionisierten Eiweißteilchen gebundene Wasser zu einem großen Teile als Hydratwasser aufgefaßt werden darf. Derartige Vorgänge sind freilich in den

lyophilen Organosolen der Lipoide, die nach unseren Untersuchungen in den hier zu behandelnden Fällen vorliegen, höchst unwahrscheinlich.

Indessen ist kein Grund vorhanden, die Lösungsmittelbindung in diesen Fällen anders als die der lyophoben Kolloide aufzufassen. Es steht also zunächst der Annahme nichts entgegen, ja sie bildet sogar die einzige zur Zeit zur Verfügung stehende Erklärungsmöglichkeit, daß die in der Lyophilie zum Ausdruck kommenden Beziehungen zwischen disperser Phase und Dispersionsmittel einer intensiven Adsorbierbarkeit des Dispersionsmittels an die Teilchen der dispersen Phase zuzuschreiben sind. Wenn nun schon in den als echte Lösung imponierenden Auflösungen der Lipoide im organischen Lösungsmittel die Beziehungen rein adsorptiver Natur, auf jeden Fall aber nicht Lösungsbeziehungen sind, so ist ein gleiches um so mehr für den umgekehrten Fall zu erwarten. Es ist dann nämlich noch weniger vorstellbar, daß, wenn sich das Mengenverhältnis zwischen Lipoid und organischem Lösungsmittel umkehrt, dem Lipoid nun plötzlich ein molekulares Auflösungsvermögen für das in geringer Menge herantretende Chloroform, Benzol u. ä. zukommen soll. Vielmehr muß auch dann für die Beziehungen dieser Substanzen zum Lipoid das Adsorptionsvermögen des Lipoids maßgebend sein. Kurz, auf allen Wegen haben die Untersuchungen dazu geführt, die Eigenschaft der Lipoidlöslichkeit in das Reich einer vorzeitigen Hypothese zu verweisen, und es ergeben sich alle Gesichtspunkte, unter denen die Frage der Beziehungen zwischen den Lipoiden und den ihnen affinen — sogenannten „lipoidlöslichen" — Substanzen, darunter auch den Narkoticis, zu betrachten ist, aus den Sätzen, die an den Schluß der damaligen Untersuchungen gestellt wurden: „Die Hypothese von der Lösefunktion der Lipoide und damit die hieraus abgeleitete Theorie der Stoffaufnahme in die Zelle und der Narkose hat sich aus den studierten Beispielen nicht bestätigt. Das Studium der Abhängigkeit der „Aufnahme" der bei diesen Theorien in Frage kommenden Substanzen durch die Lipoide zeigt, daß der Prozeß nicht dem Henry-Nernstschen Absorptionsgesetze folgt, sondern eine Adsorption darstellt. Die Aufnahme von basischen Farbstoffen, organischen Lösungsmitteln und in Wasser gelösten organischen Substanzen durch Lipoide ist keine lineare Funk-

tion der Konzentration, sondern wird durch eine Adsorptionsisotherme bestimmt. Dementsprechend ist von den lipoiden Komponenten der Zellmembran, soweit sie nicht nach dem Zellinnern zu frei beweglich sind, keine Erleichterung, sondern vielmehr eine Hysterese der Aufnahme ins Innere zu erwarten."

Damit dürfte jeglicher Lipoidtheorie der Narkose, sofern sie sich auf die Lösefunktion der Lipoide stützt, die Grundlage genommen sein. Wir haben aber in den voraufgegangenen Abschnitten entwickelt, daß den vielen der Diskussion über die Lipoidtheorie zu verdankenden Untersuchungen dennoch der Hinweis auf eine Beteiligung der Lipoide am Narkosevorgang zu entnehmen ist. Einen weiteren Hinweis bilden unsere soeben erwähnten eigenen Untersuchungen; lehren sie doch, daß in dem starken Adsorptionsvermögen der Lipoide für die Narkotica geradezu eine Spezifizität dieser Stoffe gesehen werden muß. Da nun gemäß unseren voraufgegangenen Entwicklungen eine Beteiligung der Lipoide am Aufbau aller lebens- und damit narkosefähigen Strukturen anzunehmen ist, müssen diese spezifischen Fähigkeiten der Lipoide sicherlich in Aktion treten, wenn ein narkotisch wirkender Stoff in solche Lipoide enthaltende Systeme seinen Eingang findet. Ihre Funktion kann dann aber nicht, wie bisher vorgestellt wurde, darin gesucht werden, daß sie als gute Lösungsmittel die Narkotica irgend woher aufnehmen und ihren Zutritt in die Zelle oder irgendwelche andere von ihnen umschlossene Phase vermitteln, in welcher sich erst die eigentliche zur Narkose führende Reaktion des Narkoticums abspielt. Sie können keine Zuführungsfunktionen besitzen, denn zu einer solchen wären sie als Adsorbentien nur höchst ungeeignet wegen der geringen Wiederabgabe; steht doch eine Adsorptionsschicht eines bestimmten Stoffes an einem starken Adsorbens bereits mit äußerst kleinen Konzentrationen des gleichen Stoffes in der umgebenden Lösung im Gleichgewicht. Wenn sich also die Lipoide, wie sie dies allein schon vermöge ihrer Anwesenheit tun müssen, in wesentlichem Grade an den Vorgängen der Narkose beteiligen, so können sie nicht eine Vermittlerrolle spielen, sondern sie müssen selbst das Substrat des als Narkose imponierenden Vorganges bilden.

In welcher Weise wird nun also nach dem Gesagten eine solche Funktion der Lipoide zu erwarten sein? Wir haben Lipoidteilchen ins Auge zu fassen, welche die disperse Phase oder einen Teil dieser in dem gelförmigen System einer Membran im engeren oder weiteren Sinne bilden. Als hydrophile Kolloide, als welche die Lipoide insbesondere seit den Untersuchungen von Porges und Neubauer[1]) erwiesen sind, sind diese Lipoidteilchen mit einer größeren Menge von Bindungswasser, je nachdem wie man sich ihre Hydrophilie nun vorzustellen hat[2]), umschichtet oder durchwoben. Dieses Bindungswasser bedingt ja bei ihnen ebenso wie bei den Eiweißkörpern die Eignung zur Gelbildung und damit zum Aufbau von Gebilden mit Membranfunktion. Und daß ein Teil des am Membranaufbau mitwirkenden Wassers durch diese Bindung an hydrophile Teilchen in seinen Eigenschaften verändert ist, bildet, wie wir gesehen haben, eine wesentliche Grundlage der besonderen Membranfunktionen. Da die gebundenen Wasserteilchen an freier Beweglichkeit eingebüßt haben, so muß ein gleiches von der Beweglichkeit der im Bindungswasser molekular gelösten Stoffe gelten. Die Permeabilität der Membran hängt schon unter normalen Umständen von der Wasserbindung ab. Sie muß sich also ändern, wenn durch einen neu hinzutretenden Vorgang dieses gebundene Wasser in der einen oder anderen Weise beeinflußt wird.

Wie verändern sich nun also die Eigenschaften eines hydrophilen Lipoidteilchens einschließlich der von ihm gemäß seiner Hydrophilie gebundenen Wassermenge?

Einigen Aufschluß darüber geben uns bereits die vor längeren Jahren, freilich nur an Hydrosolen, nicht an Gelen, vorgenommenen Versuche von Calugareanu[3]), wenn auch deren Deutung durch den Autor selbst recht unvollkommen war und ihn insbesondere auf diejenigen Eigenschaften der Lipoide hätte

---

[1]) l. c.

[2]) Bei der Erörterung der Lyophilie der Lipoide im organischen Lösungsmittel (S. 203) lag das Hauptgewicht auf der adsorptiven Bindung. Bei der Hydrophilie ist naturgemäß auch für die Lipoide die Lösungsmittelbindung durch Hydratation bedeutend in Erwägung zu ziehen.

[3]) Diese Zeitschr. 29, 96, 1910.

aufmerksam machen müssen, die erst durch meine späteren, oben berichteten Untersuchungen Aufklärung gefunden haben. Calugareanu prüfte das Verhalten wässeriger Lipoidsole beim Zusatz von Chloroform. Er beobachtete dabei, daß die zuvor stabilen Auflösungen ausgeflockt wurden. Er glaubt bereits aus der Tatsache, daß die Flocken des an sich leichteren Lipoids nicht aufrahmten, sondern sedimentierten, schließen zu können, daß sie durch Aufnahme von Chloroform an spezifischem Gewicht zugenommen haben müssen. Und er fand auch in der Tat bei einer Analyse der Flocken einen recht beträchtlichen Chloroformgehalt[1]). Diese Ausflockung wässeriger Lipoidlösungen durch Narkotica fand eine genauere Analyse durch Handovsky und Wagner[2]). Sie untersuchten das Verhalten solcher „narkotisierter" Lipoidhydrosole gegenüber Elektrolyten, und fanden dabei, daß die Elektrolytempfindlichkeit durch die Behandlung mit Narkoticum außerordentlich zugenommen hatte. Sie prüften die Viscosität und fanden diese durch die Narkotisierung erniedrigt. Beide Erscheinungen, die hohe Salzempfindlichkeit wie die nur unbedeutende Beeinflussung der inneren Reibung des Lösungsmittels, stellen nun die wesentlichsten Unterschiede der lyophoben Kolloide gegenüber den lyophilen, sehr elektrolytbeständigen, stark viscositätserhöhenden dar.

Der Einfluß eines Narkoticums auf ein Lipoidhydrosol äußert sich also in der Umwandlung eines lyophilen Sols in ein lyophobes. Derartige Übergänge aus der einen Gruppe der Kolloide in die andere sind nun im umgekehrten Sinne sehr zahlreich bekannt. Die Schutzwirkung an lyophoben Solen ist zum mindesten in

---

[1]) Außerhalb des Zusammenhangs, in dem wir diese Untersuchungen hier bringen, erscheint bemerkenswert, daß Calugareanu schon auffiel, daß von dem Lipoid nur sehr unbedeutende Mengen in das Chloroform gingen. Nach seiner Anschauung, daß Lipoid und Chloroform gegenseitig gute Lösungsmittel bilden, hätte er in der Tat einen reichlichen Übergang von Lipoid in das Chloroform finden müssen. In dem Lichte unserer Untersuchung findet freilich das Ausbleiben dieses Übergangs sehr leicht seine Erklärung, denn für den Übergang eines amphophilen Kolloids aus dem einen Lösungsmittel in ein anderes sind naturgemäß gänzlich andere Gesetze maßgebend als für den Übergang einer in einem Lösungsmittel kolloiddispersen Substanz in ein anderes Lösungsmittel, das diese Substanz molekulardispers aufzunehmen vermag.

[2]) Diese Zeitschr. **31**, 22, 1911.

den Fällen[1]), die mit dem unsrigen am besten in Analogie zu setzen sind, wahrscheinlich zurückzuführen auf die Umwandlung eines lyophoben Kolloids in ein lyophiles. Das lyophobe Teilchen wird mit einer Schicht lyophilen Kolloids umgeben, und diese neuen Eigenschaften seiner Oberfläche, die Eigenschaften des lyophilen Kolloids, werden nun charakteristisch für das ganze Teilchen. Da wir nun das starke Adsorptionsvermögen der Lipoide für die Narkotica kennen gelernt haben, so ist nichts näherliegend, als sich den ersten Teil des Umwandlungsvorgangs bei dem zuvor lyophilen Lipoidteilchen als eine Adsorption von Narkoticum an dessen Oberfläche vorzustellen. Die hydrophoben Eigenschaften eines mit solcher Adsorptionsschicht von Narkoticum beladenen Teilchens können nun auf zweierlei Weise zustande kommen. Entweder findet — und das wird vor allem eintreten können, wenn auch die Wasserbindung schon auf adsorptivem Wege zustande kam — eine Verdrängung des Bindungswassers, auf dem die Hydrophilie beruhte, durch das stärker adsorbierbare Narkoticum statt, und der Adsorptionskomplex Lipoid-Narkoticum besitzt, wie das ohne weiteres plausibel ist, geringere Hydrophilie als der zuvor vorhandene Komplex Lipoid-Bindungswasser. Oder aber dem ganzen Komplex Lipoid-Bindungswasser kommt ein Adsorptionsvermögen für das Narkoticum zu. Ein solches Verhalten wird dann zu erwarten sein, wenn die Hydrophilie zu einem wesentlichen Teile auf Hydratationsvorgänge zurückzuführen ist. Es wird im vorliegenden Falle schon dadurch wahrscheinlich gemacht, daß den durch Narkoticum aus-

[1]) R. Zsigmondy hält in seinem Werke: Kolloidchemie (Berlin 1912) die Schutzkolloidwirkungen ganz allgemein einer verschiedenartigen Erklärung fähig und meint, daß eine Umhüllung eines lyophoben Teilchens mit einer Schicht des lyophilen Kolloids, wobei also sicherlich viele hydrophile Teilchen an das eine hydrophobe herantreten müssen, nur dann vorzustellen ist, wenn die Teilchen des Schutzkolloids viel kleiner sind als die des geschützten hydrophoben. Wir können uns für die Betrachtung der Wirkung von Narkoticum auf Lipoidteilchen darauf beschränken, ausschließlich solche Fälle zum Vergleich heranzuziehen, denn die Größendifferenz entspricht in unseren Fällen zweifellos diesen von Zsigmondy verlangten Vorbedingungen; sind doch die adsorbierten Narkotica in dem gemeinsamen Dispersionsmittel (Wasser) echt gelöst, ihre Teilchen also von molekularen Dimensionen im Gegensatz zu den kolloiddispersen Teilchen des Lipoids.

geflockten Lipoidteilchen, wie wir uns durch eigene Versuche überzeugen konnten, immer noch ein außerordentlich bedeutendes Volumen zukommt. Da wir unsere Versuche nicht durch Zusatz von reinem Chloroform, sondern durch Vermischung der wässerigen Lipoid-Aufschwemmung mit geringen Mengen chloroformgesättigten Wassers vorgenommen haben, so kann dieses Volumen unmöglich den winzigen Mengen Chloroform zugeschoben werden. Wenn die zweite Annahme richtig ist, so muß allein die Oberflächenschicht von Narkoticum, deren Eigenschaften, wie man schon dem bei den Schutzkolloidwirkungen Erörterten entnehmen kann, maßgeblich sind, dem Teilchen seine hydrophoben Eigenschaften verleihen. Für die organischen Lösungsmittel kann eine solche Eigenschaft ohne weiteres angenommen werden, soweit sie mit Wasser schlecht oder gar nicht mischbar sind. Beruht doch auf dieser ihrer Eigenschaft die Schwierigkeit, sie stabil in feiner Emulsion in Wasser zu erhalten, während dies nach Zusatz eines Emulgens leicht stattfindet; und diese Emulgenzien sind ja stets hydrophile Kolloide, die den Tröpfchen des zu emulgierenden Stoffes gegenüber Schutzkolloidwirkungen entfalten. Schwieriger ist die Entscheidung dieser Frage hinsichtlich der anderen narkotischen Stoffe.

Zwischen beiden Möglichkeiten der Wirkung des Narkoticums auf das zuvor lyophile Teilchen im Sinne einer Umwandlung in ein lyophobes kann nach den bisher aufgezählten Untersuchungen noch nicht mit Sicherheit entschieden werden. Eine solche Entscheidung ist aber notwendig. Denn je nach der Art, wie sich die Frage entscheidet, muß die Einwirkung eines Narkoticums auf ein gelförmiges, lipoide Teilchen enthaltendes System grundsätzlich verschieden sein. Haben wir es mit einer Verdrängung von Bindungswasser durch Narkoticum gemäß der ersten der hier erörterten Möglichkeiten zu tun, so muß das System der Membran nach der Narkotisierung mehr freies Wasser enthalten als zuvor. Die Permeabilität der Membran muß dann vergrößert sein, denn die Verminderung des permeablen Querschnitts durch die Vergrößerung der Lipoidteilchen infolge adsorbierten Narkoticums wird insbesondere, wenn es sich wie gewöhnlich nur um kleine Mengen von Adsorbendum handelt, bedeutend überkompensiert werden durch die frei gewordenen nicht unbeträchtlichen Mengen von Bindungswasser. Geht aber

der Vorgang gemäß der zweiten Möglichkeit, so werden große Teile der Membran, die infolge ihrer Zusammensetzung aus Bindungswasser, wenn auch beschränkt, permeabel waren, aus dem Querschnitt der Membran, der für wasserlösliche Substanzen passierbar ist, ausgeschaltet infolge der allseitigen Umhüllung dieser Membranpartien durch die nicht oder schlechter passierbare Schicht von Narkoticum.

Zur Entscheidung dieser Frage, die sonach offensichtlich ausschlaggebend ist für die endgültige Auffassung des „Membraneffekts" der Narkotica, haben wir nun aus der vorliegenden Literatur kaum Handhaben. Als einziger hat Lepeschkin[1]) Versuche in dieser Richtung angestellt. Er prüfte nämlich die Durchlässigkeitsänderung der Zellmembran nach ihrer Narkose gegenüber wasserlöslichen und schlecht in Narkoticum löslichen Stoffen einerseits, gut in Narkoticum, schlecht in Wasser löslichen andererseits. Er wählt als solche Stoffe Farbstoffe, deren beschleunigten oder verlangsamten Eintritt in die Zelle er mit dem Auge feststellen konnte. Und er fand, daß das gut wasserlösliche, in den von ihm verwendeten Narkoticis Chloroform und Äther kaum lösliche Methylenblau die narkotisierte Zellmembran langsamer passierte als die unbehandelte, während das in Wasser nicht besser als in Äther und Chloroform lösliche Bismarckbraun durch die Narkose der Zellmembran keine merkliche Beeinflussung seiner Einwanderungsgeschwindigkeit erfuhr. Freilich lassen diese wenigen Versuche Lepeschkins an der Plasmamembran weder einen Schluß auf andere Gebilde zu, die nicht wie die Pflanzenzellen mit einer nachweisbaren Plasmamembran umgeben sind, noch auch erlauben sie einen Schluß auf die Beteiligung der Lipoide, solange nicht gezeigt ist, daß in der Tat den Lipoiden eine ursächliche Bedeutung bei dieser Permeabilitätsänderung zugeschrieben werden muß. Denn wenn dies auch nach allem über die Beteiligung der Lipoide am Aufbau der Plasmamembran Bekannten recht wahrscheinlich ist, so könnten doch auch nichtlipoide Komponenten der Plasmamembran den gleichen Einflüssen unterliegen.

Zudem stehen die Befunde Lepeschkins nicht ganz in Einklang mit den Angaben anderer Untersucher. Schon vor

[1]) l. c.

ihm hatte sich Pfeffer[1]) mit ähnlichen Untersuchungen befaßt und dabei nur bei Wurzeln von Trianea eine Verzögerung der Aufnahme von Methylenblau durch die Narkose gesehen. Auch für diesen positiven Befund will er nur eine indirekte Beteiligung der Narkose einräumen, indem er meint, daß infolge der Narkose die Plasmaströmung aufgehoben worden sei, und erst deren Ausbleiben als eines Faktors, der die Farbstoffdiffusion begünstigte, soll die Aufnahme verzögern. Insbesondere aber macht Ruhland[2]) gegen Lepeschkins Versuche geltend, daß er sie am gleichen Objekte, den Spirogyrafäden, nicht habe bestätigen können. Freilich berichtet er über seine Versuche nur ganz kursorisch und ohne jegliche Angabe über die Zeitverhältnisse oder überhaupt genauere Daten seiner Versuchsprotokolle anzuführen, und faßt sie nur dahin zusammen, daß er „merkliche oder gar irgendwie konstante Unterschiede" nicht habe finden können. Dem stehen nun die ausführlichen und sehr sprechenden Angaben Lepeschkins entgegen, so daß zum mindesten eine Entscheidung schwer fallen dürfte. Kurz, es erschien erforderlich, diesem Problem noch von anderer Seite her näherzutreten.

Die Notwendigkeit, sich mit dem Studium solcher „Membraneffekte" der Narkotica an lipoiden Membranen im Sinne einer Permeabilitätsänderung eingehend zu befassen, erhellt aber auch, wenn man auf einem ganz anderen Wege als der Erörterung der Narkosetheorien vorgeht. Faßt man nämlich statt dessen das Substrat der Narkose im engeren Sinne bei den höheren Organismen selbst ins Auge, nämlich das Zentralnervensystem, so stößt man da wiederum auf die Lipoide, deren so außerordentlich starke Beteiligung am Aufbau dieses differenziertesten Substrates narkotischer Vorgänge sogleich ein Verdachtsmoment für das Bestehen eines inneren Zusammenhangs liefert. Zunächst wird man ihnen gemäß ihrer Masse bereits an den Vorgängen der normalen Funktion der nervösen Substanz eine Beteiligung vindizieren dürfen. Nun sind gewiß unsere dürftigen Kenntnisse von dem Mechanismus der Nervenfunktion nicht eben geeignet, um sie zur Basis einer Fragestellung hinsichtlich der Narkose zu machen. Allein es läßt

[1]) Unters. a. d. Bot. Inst. Tübingen 2, 285, 1886.
[2]) l. c.

sich doch ein umschriebenes Gebiet finden, das einmal eine Gemeinsamkeit zwischen der nervösen Substanz und anderen narkotisierbaren Gebilden umfaßt, andererseits eine ausführliche Deutung erfahren hat, nämlich das Gebiet der bioelektrischen Ströme, die ja in der augenfälligsten Weise bei dem Vorgang der Erregungsleitung im Nerven in Erscheinung treten. Zu ihrer Deutung sind die verschiedensten Autoren auf den verschiedensten Wegen dazu gekommen, zunächst an die Differenz benachbarter Partien des Organismus (z. B. Zelle, Lymphe) hinsichtlich der Elektrolyte anzuknüpfen und zwischen solchen Teilen differenten Elektrolytgehalts beschränkt durchlässige Membranen zu supponieren. Derartige Membranen waren am plausibelsten als der Sitz der bioelektromotorischen Kräfte anzunehmen. Es kann hier nur in aller Kürze auf die am besten ausgearbeitete Membrantheorie der bioelektrischen Ströme eingegangen werden, die Bernsteinsche[1]). Sie macht es wahrscheinlich, daß die in Frage kommenden Erscheinungen auf diffusionselektromotorische Kräfte zurückzuführen sind, die auf einer Verschiedenheit der Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen innerhalb einer Membran beruhen. Und zwar soll die Wanderungsgeschwindigkeit in der Membran derart beeinflußt werden, daß wesentlich der Durchtritt von Kationen von innen nach außen ermöglicht ist. Da diese Kationen aber nicht hinausdiffundieren können, so wird die Membran bereits im ruhenden Zustand des Organs zum Sitz eines dauernden Potentialsprungs, der sich dann an der Untersuchung zugänglichen Organen bei Anlegung einer Querschnittsläsion als Ruhestrom äußert. Der Aktionsstrom, der beim Passieren einer Erregungswelle an der aktiven Stelle auftritt, wird durch ein verändertes Verhalten der Membran in diesem Moment erklärt; die Membran wird durch den Erregungsvorgang so verändert, daß sie sich verhält, als habe sie ein Loch bekommen, das sich nach dem Durchgang der Erregungswelle von selbst wieder schließt. Durch den Vorgang der Erregungsleitung wird die Polarisation der Membran vorübergehend aufgehoben. Diese Membrantheorie hat nun von Höber[2]) einen wesentlichen Ausbau erfahren.

[1]) Zusammenfassend in: J. Bernstein, Elektrobiologie. Braunschweig 1912.

[2]) l. c.

An der Hand eigener Versuche über die Entstehung von Ruheströmen unter dem Einfluß von Alkalisalzen und der Versuche Overtons über den Einfluß der Salze auf die Erregbarkeit konnte er zeigen, daß es Salzwirkungen gibt, die den gleichen Effekt setzen können wie eine Verletzung oder eine Erregungswelle. Die Reihenfolge in der Wirksamkeit der Ionen der Neutralsalze war nun die der lyotrophen Reihe, und es war naheliegend, sich ihre Wirksamkeit in der Form einer Zustandsänderung lyophiler Kolloide vorzustellen. Da die „kolloidauflockernden" Ionen, wie sich Höber ausdrückt, dieselbe Wirkung hatten wie die Verletzung und die Erregungswelle, d. h. eine Permeabilitätssteigerung, so mußte[1]) für alle diese Vorgänge an eine gemeinsame Ursache in Gestalt einer Zustandsänderung der Membrankolloide gedacht werden. Was nun Höber als „Auflockerung" bezeichnet, ist, soweit man aus dem Mißverständlichen seiner Darstellung schließen kann, nichts anderes als eine Verminderung des lyophilen Zustands der Kolloidteilchen unter Wasserabgabe. Dabei wird, wie wir oben gesehen haben, eben durch Verringerung des „Bindungswassers" und Vermehrung des freien Wassers die Beweglichkeitsanomalie in der Membran verringert. Höber prüfte daraufhin, ob alle diese Vorgänge in der Tat einer einheitlichen Ursache zuzuschreiben seien. Als Kriterium verwendete er die Narkotica, die ja den einen dieser Prozesse, die Auflockerung bei der natürlich fortgeleiteten Erregung, schwächen. Waren beide Vorgänge wesenseins, so mußten sie auch das Entstehen des Salzruhestroms hemmen. Diese Voraussetzung bestätigte sich Höber in der Tat; die Narkotica wirkten im Gegensatz zu den nichtnarkotischen Nichtelektrolyten (Rohrzucker, Traubenzucker, Mannit, Harnstoff) in dem erwarteten Sinne. Daraus leitete Höber die Vermutung ab, daß die Zustandsänderung der Membrankolloide (wie Höber meint, der Plasmahaut), welche die Salzwirkung wie die Erregungsleitung darstellen, durch die Narkotica gehemmt wird. Bis zu diesem Punkte gelangt man mit Bernstein und Höber; der Weg über die Theorie der normalen Nervenfunktion hat also bis jetzt auch

[1]) Es werden hier wie an einigen der folgenden Stellen ausschließlich die Folgerungen Höbers wiedergegeben, die eine kritische Behandlung z. T. erst im Schlußabschnitt erfahren sollen.

gerade so weit geführt, daß man eine Änderung von Membranfunktionen durch die Narkotica als Grundlage der Narkose annehmen kann.

Beide Wege, die uns bis zu diesem Punkte geführt haben, enden in der Fragestellung, wie die Wirkung auf die Membranfunktionen ihrem genaueren Mechanismus nach vorzustellen ist. Wir erfahren zwar von Höber, daß es sich um einen Prozeß handeln muß, der die entgegengesetzte Wirkung hat wie die „Auflockerung"; was er aber weiter zur Erleichterung der Vorstellbarkeit anführt, kann diesem Zwecke eigentlich kaum dienen.

Er meint z. B., daß die Narkotica den inversen Ruhestrom, den die verdichtenden Ionen erzeugen, wohl deshalb aufheben könnten, weil sie ja u. a. Lipoide irreversibel lösen können. Und daß sie anderer. seits der Auflockerung bei dem normalen Salzruhestrom entgegenwirken können, meint er daraus entnehmen zu können, daß sie in Solform durch Narkotica ausgeflockt werden können. Er hält diese beiden Punkte selbst nur für Andeutungen, wie der eingestandenermaßen ungeklärte weitere Vorgang sich vorstellen ließe. Allein gerade diese beiden Anführungen scheinen zu einer Klärung des Problems doch recht ungeeignet. Denn es ist zu fordern, daß der Narkosevorgang eben nur der Auflockerung beim normalen Salzruhestrom, und zwar in reversibler Weise, entgegenwirkt. Diese „Auflockerung" beruht aber, wie oben mehrfach ausgeführt, in einer reversiblen Verdichtung der einzelnen Teilchen unter Verkleinerung durch Abgabe von Bindungswasser, unter Entquellung. Irreversible Wirkungen der Narkotica, die sie in viel höheren Konzentrationen setzen können, ins Feld zu führen, ist also von vornherein falsch. Und Vorgänge im Sol anzuführen, ist so lange unzweckmäßig, als die Erläuterung fehlt, wie solche Vorgänge am Sol sich in ihrem Effekt ändern, sobald die Teilchen nicht mehr im Sol, sondern in Gelform vorhanden sind. Denn wenn im Sol Ausflockung beobachtet wird, so kann dies, wenn man von den Fällen absieht, in denen eine Änderung der gegeneinander gerichteten Teilchenkräfte (z. B. Verminderung der elektrischen Ladung der Teilchen) die primäre Ausflockungsursache ist, auf zweierlei Weise zustandegekommen sein: beide Male durch Verminderung des hydrophilen Zustandes; aber das eine Mal durch Entquellung mit Verkleinerung des Teilchenvolumens, das andere Mal indessen durch Umhüllung des Teilchens mit einer Adsorptionsschicht, die hydrophobe Eigenschaften besitzt, wobei es gleichgültig ist, wieviel Lösungsmittel noch hinter dieser Adsorptionshülle festgehalten ist, wobei also das Volumen durchaus nicht immer verkleinert, sondern, wenn noch das gesamte „Bindungswasser" festgehalten ist, sogar noch vergrößert ist. Im Sol ist das für den Effekt insofern gleichgültig, als beide Male die hydrophober gewordenen Teilchen ausflocken.

Wenn man die für Sole verständliche Ausdrucksweise Höbers auf das Gel übertragen will, so wird man in zwei ganz verschiedenartigen Fällen von einer Ausflockung im Gel reden. In diesen beiden Fällen ist aber diejenige Änderung des Gels, auf die es ankommt, nämlich die der Permeabilität, eine ganz verschiedene. Diese wird gesteigert und der des nicht in eine Membranstruktur verwobenen Lösungsmittels nähergebracht, wenn die Teilchen nur durch Wasserentbindung entquellen, sie kann aber in anderer Weise verändert werden, wenn um die Teilchen eine Adsorptionsschicht mit schlechter Lösefähigkeit für wasserlösliche Stoffe hinzukommt. Die Veränderungen in diesem letzten Fall, der offenbar für Narkoticumadsorption an Lipoide zutrifft, werden weiter unten ausführlich erörtert werden.

Es sind also „Verdichtung" und „Auflockerung" Ausdrucksweisen, die am Gel nur mit aller Vorsicht und nach klarer Überlegung angewandt werden dürfen. Und es läuft alles, was an unserem Problem noch unklar ist, auf die Notwendigkeit hinaus, zu entscheiden, welche Zustandsänderung denn nun durch das Narkoticum im System der Membran gesetzt wird, ob die zu erwartende Adsorption des Narkoticums an lipoide Teilchen mit einer Vergrößerung oder Verkleinerung der schlechter permeablen Massenanteile der Membran einhergeht.

Im experimentellen Teil dieser Arbeit wird nun versucht, auf diese Frage in der folgenden Weise Antwort zu geben: Wenn man die Permeabilität der Membran für Elektrolyte allein ins Auge faßt, so werden diese bei geeigneter Auswahl in einer konzentrierten Adsorptionsschicht der meisten Narkotica unlöslich sein. Alle von einer Adsorptionsschicht von Narkoticum rings umhüllten Teilchen werden dann aus der für den Elektrolyten durchlässigen Masse der Membran ausfallen. Geschieht nun die Umwandlung des zuvor hydrophilen, also beschränkt durchlässigen Teilchens in ein solches undurchlässiges unter Volumenvermehrung, so wird eine Herabsetzung der Leitfähigkeit der Membran durch die „Narkose" stattfinden, im umgekehrten Falle eine Erhöhung ihrer Leitfähigkeit. Es war also zu prüfen, wie sich die Leitfähigkeit einer Membran unter dem Einflusse des Narkoticums ändert.

VI. Methodik und Vorversuche.

Die Methode, nach der die Ausführung der Widerstandsbestimmungen selbst vorgenommen wurde, konnte ohne wesentliche Abänderungen an die Kohlrauschsche angelehnt werden. Die Anordnung, die in den vorliegenden Versuchen eingehalten wurde, geht ohne weiteres aus der beigegebenen Fig. 4 hervor.

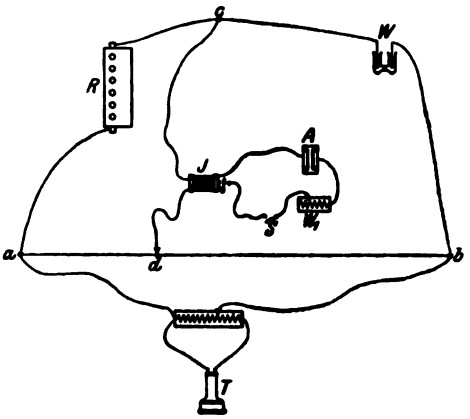


Fig. 4.

Als Stromquelle kam eine Akkumulatorenbatterie mit einer EMK von 4 Volt zur Anwendung; zur Regelung der Stromstärke im Primärkreis diente ein hinter diesen geschalteter Schieberwiderstand (W_1). Der Sekundärstrom wurde in einem kleinen Induktorium mit wenigen Windungen erzeugt, dessen Unterbrecher auf eine möglichst hohe Schwingungszahl eingestellt war. Als Meßdraht wurde ein auf 1000mm ausgespannter Platiniridiumdraht mit Schleifkontakt verwendet. Dem Telephon war zur Verbesserung des Minimums ein Dämpfungswiderstand (D) parallelgeschaltet. Besonderer Wert war auf die Auswahl des Vergleichswiderstandes (R) gelegt. Als solcher dienten zwei Stöpselrheostaten mit einem zusammen von 0 bis 4000 Ohm reichenden Widerstand, deren Genauigkeit auf 0,3 % geeicht war. Während der Vorversuche waren an deren Stelle bisweilen größere Widerstandskästen erforderlich. Der Stromzuführung zum Meßobjekt dienten Platinelektroden von etwa 2 qcm Oberfläche; sie wurden auf dem üblichen elektrolytischen Wege gut platiniert und wurden von Zeit zu Zeit nachplatiniert.

Bis hierher wich also die Methode nicht von der gebräuchlichen ab. Dagegen erstanden bei der Herstellung der Membranen selbst, bei der Auswahl passender Gefäße zur Aufnahme der Membranen und der sie umspülenden Salzlösungen, sowie bei der Unterbringung der Membranen in diesen Gefäßen außerordentliche Schwierigkeiten. Die ursprüngliche Anordnung — mit der mir bereits vor mehr als drei Jahren die Feststellung einer Leitfähigkeitsverringerung lipoider Membranen durch Narkotica gelungen war, die den vorliegenden Untersuchungen die Richtung gab — erwies sich als ungeeignet für

irgendwelche genaueren und kontinuierlichen Untersuchungen, und es bedurfte einer langen Reihe von Vor- und Fehlversuchen durch viele Monate hindurch, um eine brauchbare Methodik zu ermitteln. Es sollen daher diese Vorversuche nicht ganz übergangen werden, da sie zum mindesten in Dingen der Methodik für spätere Bearbeiter der Frage von Wert sein dürften. Sie dienten zunächst der Auffindung einer geeigneten Herstellungsweise der Membranen und einer passenden Gefäßform für deren Fixierung.

Bereits Quincke betont[1]), daß „die Erzeugung fester Lamellen von geringer Dicke mit experimentellen Schwierigkeiten verknüpft ist", so daß es ihm zuerst nicht gelingen wollte, geeignete Objekte für seine Versuche herzustellen. Er kam dann schließlich für seine Zwecke zum Ziel, indem er die Lösungen der bereits in einem früheren Abschnitt aufgezählten Kolloide auf die ebene Oberfläche von Quecksilber goß und dort erstarren ließ. Dieses Verfahren ist indessen für die Lipoide, aus denen die hier zu benutzenden Membranen hergestellt sein mußten, von vornherein unbrauchbar. Denn wenn sie auch hydrophile Kolloide sind und mit Wasser zu einer gelatinösen Masse aufquellen, so sind doch ihre Gallerten von zu geringer Festigkeit, als daß sich mit ihnen noch irgendwelche Manipulationen vornehmen ließen. Andererseits mußte die Dünne der Schicht aus zweifachen Gründen gewahrt bleiben; erstens aus Sparsamkeitsrücksichten wegen des schwer zu beschaffenden und kostbaren Materials, zweitens aber auch deswegen, weil der hohe Widerstand dickerer Schichten die Genauigkeit der Messungen verringert haben würde. Es war also von vornherein die Notwendigkeit klar, die fehlende Festigkeit durch die Verwendung von Stützsubstanzen zu ersetzen. Daher wurden zuerst kurze, an beiden Seiten offene Glasröhrchen auf der einen Seite mit Pergament überzogen, die überzogenen Enden dann wiederholt in konzentrierte Chloroform- oder Ätherlösungen der Lipoide eingetaucht und nachdem so eine dicke Lipoidschicht auf der Pergamentmembran angetrocknet war, über dieser wiederum eine Pergamentschicht angebracht, um das Herausschwimmen gequollener Lipoidmassen zu verhindern. Diese Röhrchen wurden dann in ein weiteres Gefäß eingehängt, innen und außen in die Gefäße Salzlösung eingefüllt und jederseits von der Membran in jedes der beiden Gefäße eine der Elektroden eingetaucht. Bei diesen Membranen stellte sich bald der Übelstand heraus, daß den gequollenen Massen zwischen den beiden Pergamentschichten viel zu viel Beweglichkeit erhalten blieb; sie konnten sich ungleich verteilen, z. B. der Schwerkraft folgend sich in dem einen Winkel des Raumes ansammeln, und es resultierten dann einzelne Stellen, an denen die Stromlinien zwischen den beiden Elektroden nur die beiden Pergamentmembranen, nicht aber eine Lipoidschicht zu passieren brauchten. Zu-

[1]) l. c.

dem waren auch die Gefäße unzulänglich, weil der Abstand der beiden Elektroden unter sich und von der Membran bei wiederholtem Eintauchen niemals genau gleichbleibend bemessen werden konnte. Daher wurde zunächst das Aufnahmegefäß modifiziert. Es wurden U-Rohre verwendet, die in der Mitte quer in zwei Hälften geteilt waren. Beide Hälften konnten durch zwei abgeschliffene Verdickungen vereinigt und durch federnde Verbindung aneinander festgehalten werden. Die beiden Hälften des horizontalen Astes des U-Rohres waren durchgängig von ziemlich engem Lumen, das sich aber an der Durchtrittstelle durch das Zentrum der abgeschliffenen Verdickungen noch besonders verengte. Allmählich kam so die aus Fig. 5 ersichtliche Form zustande.

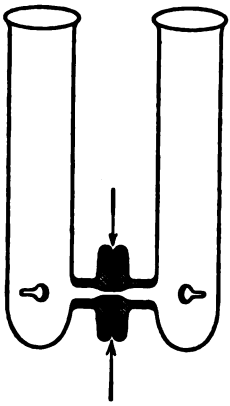


Fig. 5.

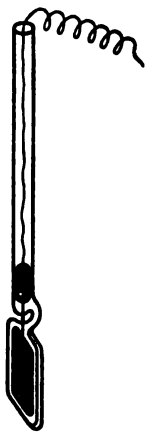


Fig. 6.

Die Elektroden wurden dann in die beiden senkrechten Schenkel eingetaucht. Um die Elektrodenplatten möglichst starr zu machen, wurde an einem als Griff und zugleich zur Zuführung der Zuleitungsdrähte durch Quecksilberkontakt dienenden Glasrohr eine schaufelförmige

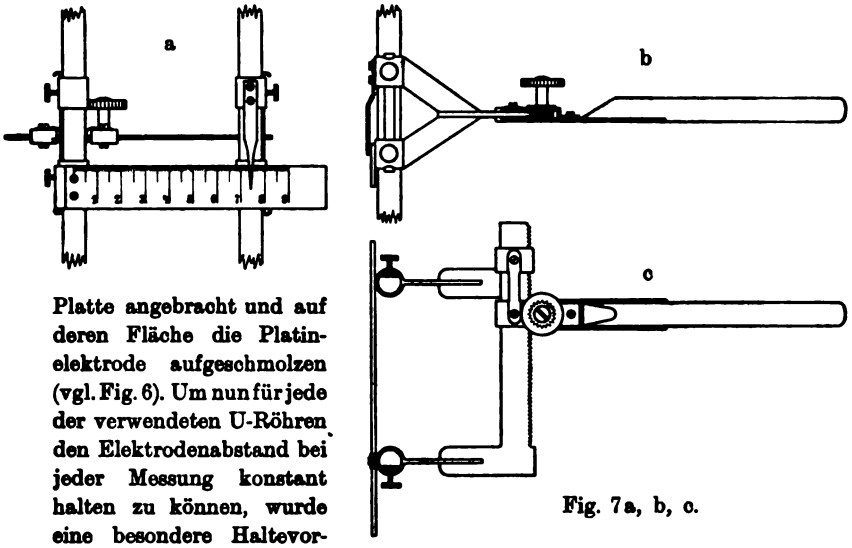


Fig. 7a, b, c.

Platte angebracht und auf deren Fläche die Platinelektrode aufgeschmolzen (vgl. Fig. 6). Um nun für jede der verwendeten U-Röhren den Elektrodenabstand bei jeder Messung konstant halten zu können, wurde eine besondere Haltevorrichtung für diese konstruiert, die gestattete, durch Zahn und Trieb die eine Elektrode in einen beliebigen auf einer Skala ablesbaren Abstand von der anderen zu bringen (vgl. Fig. 7a bis 7c). Dieser Elektrodenhalter

wurde an einem Stativ befestigt und für jede der im Versuch befindlichen U-Röhren ein konstanter Elektrodenabstand ermittelt; für die Messung an einer bestimmten U-Röhre wurde dann zunächst dieser Elektrodenabstand durch Verstellung am Halter hergestellt und sodann die U-Röhre mit ihren beiden vertikalen Schenkeln über die beiden Elektroden geschoben und durch eine Klammer für die Dauer der Messung befestigt.

Nun bestand aber noch immer die Schwierigkeit, die U-Röhre mit der zu prüfenden Membran zu versehen. Füllte man, wie dies anfänglich geschah, das feste Lipoid einfach in den schmalen Teil des horizontalen Schenkels, so verlor die so hergestellte Membran sogleich beim Aufquellen ihre Kontinuität und verteilte sich in der umgebenden Flüssigkeit. Trug man das Lipoid auf Pergament- oder Filtrierpapier auf, bedeckte es mit einer zweiten Schicht des gleichen Materials und klemmte diese dreifache Schicht zwischen die beiden Hälften des U-Rohres, so bildete das gequollene Lipoid ein Gleitmittel, mit dessen Hilfe die beiden Hälften aneinander vorbeigleiten konnten, so daß bei jeder Messung den Stromlinien ein anderer Querschnitt der Membran dargeboten wurde. Alle diese Störungen machten sich naturgemäß stets erst im Verlaufe einer Versuchsreihe geltend und traten erst zutage, indem die Messungsergebnisse in der mannigfaltigsten Weise differierten. Auch die Herstellung von Lamellen in enger Anlehnung an das Quinckesche Verfahren durch Eintrocknenlassen von lipoidhaltiger Gelatine oder Kollodium auf einer Quecksilberoberfläche führte nicht zu haltbaren Membranen; sie zerrissen beim Einklemmen zwischen die U-Rohrhälften und waren auch nicht von gleichmäßigem und ausreichendem Lipoidgehalt zu gewinnen. Am brauchbarsten erwies sich noch folgendes Vorgehen: Es wurden Gummiplättchen von den gleichen Abmessungen wie die Endplatten der U-Rohrhälften und von übereinstimmender Dicke — 1 mm — hergestellt. Sie wurden in der Mitte mit einem Loche von dem gleichen Durchmesser wie die Verengerung des horizontalen Schenkels des U-Rohres versehen. Jeder solche Ring wurde auf eine Scheibe Filtrierpapier aufgepreßt und in seinen Ausschnitt eine möglichst konzentrierte Lösung von Lipoid in Chloroform oder ein möglichst feiner Brei aus Lipoid und Salzlösung eingestrichen, darüber eine zweite Filtrierpapierscheibe gelegt und das ganze in genau konzentrischer Lage mit Hilfe einer geeigneten Vorrichtung[1]) zwischen den beiden Hälften des U-Rohres befestigt. In die Schenkel des so montierten U-Rohres wurde dann die Salzlösung eingefüllt, das Quellungsgleichgewicht der Membran abgewartet und dann zu den Messungen geschritten. Auch hinsichtlich der Wahl der Salzlösung waren zahlreiche Vorversuche notwendig, bis schließlich eine auf beide Seiten in gleicher Konzentration eingebrachte

[1]) Zangenförmiger Halter, an dessen beiden Armen sich je eine Klemme für jede Hälfte des U-Rohres befand; die Arme wurden durch Federkraft gegeneinander gehalten, so daß durch Öffnen der Arme die Platten der U-Rohre freigelegt wurden und nach dem Schließen wieder in der gleichen Lage aufeinander fixiert werden konnten.

Lösung, und zwar n-Kochsalzlösung, den Zwecken am besten zu genügen schien.

Wiederum größere Reihen von Fehlversuchen machten dann darauf aufmerksam, in welchem Umfange eine peinliche Temperaturkonstanz erforderlich ist. Sie wurde erreicht, indem die U-Rohre sich ständig in einem großen mit guter Rührvorrichtung ausgestatteten Thermostaten befanden, dessen Temperatur durch einen elektrischen Regulator auf mindestens 0,25° konstant erhalten wurde. Bei den im Anhang wiedergegebenen Versuchen war die Temperatur des Bades auf 37° eingestellt.

Als Material für die Membranen verwendete ich der Absicht der Versuche entsprechend vor allem Lipoide. Das benutzte Kephalin war ein frisch hergestelltes, außerordentlich reines, unter Luft- und Lichtabschluß aufbewahrtes Präparat, das von Herrn Dr. Parnas-Straßburg freundlichst überlassen war. Weiter kam zur Anwendung Lecithin (Ovo-) Merck, ein gleichfalls von der Firma Merck bezogenes Cholesterin puriss. und schließlich ein vielfach gereinigtes Cerebrosid eigener Herstellung, das seiner Darstellung nach gemäß der Thudichumschen Nomenklatur als Phrenosin zu bezeichnen wäre, also wohl auch identisch mit dem Thierfelderschen Cerebron gewesen ist. [Näheres über seine Herstellung ist in früheren Mitteilungen[1]) zu finden, in deren Verlauf das gleiche Präparat bereits verschiedenen Versuchen gedient hatte.]

Neben diesen Lipoiden wurden nun noch ihnen nahestehende Substanzen zur Prüfung herangezogen; also solche wurden herausgegriffen: Tristearin (Merck), Natrium stearinicum (Merck), Natrium ricinolicum (eigener Herstellung aus Rizinolsäure Kahlbaum). Schließlich dienten noch als Kontrollen Membranen aus Gelatine (10%) und aus doppelter Filtrierpapierschicht allein. Außerdem wurde die Widerstandsänderung eines membranlosen, nur mit Salzlösung beschickten U-Röhrchens unter den gleichen Einflüssen geprüft.

Von Narkoticis wurden der Prüfung unterzogen: Chloroform, Äther, Äthylalkohol, Chloralhydrat und Trichlorisopropylalkohol (Isopral). Daneben wurden auch einige andere Stoffe als diese indifferenten Narkotica, hauptsächlich zur Kontrolle, verwendet, nämlich Harnstoff, Morphin (hydrochloric.) und Strychnin (nitric.). In einigen Vorversuchen, in denen auch

[1]) Diese Zeitschr. **33**, 239, und **34**, 502, 1911.

noch andere Membransubstrate, wie z. B. Kollodium, Kautschuk, mitgeprüft waren, war außerdem noch Traubenzucker mit herangezogen worden. Von den zu prüfenden Substanzen wurden Standlösungen in n-Kochsalzlösung vorrätig gehalten und zum Versuch, ev. unter Verdünnung mit weiteren Mengen n-Kochsalzlösung, in die Membranröhrchen eingebracht.

Mit dieser Versuchsanordnung gestalteten sich nun die Messungen im Verlaufe einer Versuchsreihe an einer Membran wie folgt:

War die Membran im U-Röhrchen befestigt und dieses beiderseits mit Salzlösung beschickt, wobei sorgfältig auf die Abwesenheit von Luftblasen zu achten war, die leicht zu übersehen und schwer zu entfernen sind, so wurde zunächst einige Zeit abgewartet, bis die Membran von dem etwa bei ihrer Herstellung verwendeten organischen Lösungsmittel befreit und mit der Salzlösung im Quellungsgleichgewicht war. Daß dies der Fall war, konnte daran erkannt werden, daß die ursprünglich außerordentlich hohen Widerstandswerte allmählich absanken und der Widerstand schließlich im günstigsten Falle konstant wurde. Oft genug, und gerade bei den Lipoiden selbst, war eine solche Konstanz überhaupt nicht zu erreichen, weil die Membranen schon allein in der Berührung mit der Salzlösung man kann fast sagen eine Art von Lebentätigkeit entfalteten, d. h. niemals eine konstante horizontale Zeitkurve des Widerstands aufwiesen, indem sie sich teils wohl durch chemische Prozesse (z. B. Kephalin) ständig fortschreitend veränderten, teils aber auch infolge zu starker Quellbarkeit ihre Filtrierpapierhülle durchbrachen und dann infolge Herausschwimmens einzelner Teile Substanzverluste erlitten, schließlich aber auch zum Teil innerhalb der intakten Hüllen langsam sedimentierten und dann einen Teil des Querschnitts freiließen, an dem dann der Strom kein Lipoid mehr zu passieren brauchte. Die Fälle der ersteren Art waren die wenigst störenden, sind sie doch deutlich an der ganz kontinuierlich sich ändernden Kurve zu erkennen, die dann trotz ihres nicht mehr horizontalen Verlaufs durch Interpolation zu einer recht gut verwertbaren Basis der durch die Narkotica gesetzten Abweichungen gemacht werden kann. Die übrigen Störungen aber machten sich zum Teil dadurch kenntlich, daß auch, ohne daß Zusätze erfolgten, plötzliche unmotivierte Knicke in dem Kurvenverlauf auftraten. Solche Kurven sind dann selbstverständlich nur mit äußerster Vorsicht verwertbar, und wurden gewöhnlich ganz ausgeschieden. Da derartige Vorkommnisse aber sehr häufig waren, so konnte nur ein sehr kleiner Teil der Membranen wirklich verwendet werden, und die im nächsten Abschnitt mitgeteilten Versuchsergebnisse stellen nur die höchst spärliche Ausbeute aus einer Unzahl von Messungen dar. Diese Ausbeute wird noch dadurch verringert, daß zwar die Versuchsanordnung selbst ermöglichte, bis auf 2, sicherlich auf 5 Ohm genau einzustellen und abzulesen, daß aber doch bei wiederholten Messungen unbedeutende

Änderungen äußerer Bedingungen Änderungen der Meßresultate, wenn auch nur innerhalb eines kleinen Rahmens, herbeiführten; daher möchte man die Genauigkeit der Messungen, wenn sie auch wohl, wie schon aus den Protokollen ersichtlich ist, im allgemeinen höher war, um vorsichtig vorzugehen, nur auf 3% festlegen. — Nach Zusatz der zu prüfenden Substanz wurde dann nach wechselnden Zeiten wieder gemessen und diese Messungen bei Anwesenheit der verändernden Substanz so lange vorgenommen, bis die Abweichung vom Niveau der Kurve konstant blieb bzw. sich dem Kurvenniveau wieder zu nähern begann. Dann wurde ein- oder mehrfach ausgespült, und bei Anwesenheit von Kochsalzlösung allein wieder so lange gemessen, bis die gesetzte Veränderung wieder verschwunden, und das ursprüngliche Niveau wieder erreicht war. Konnte eine derartige Reversibilität nicht festgestellt werden, so wurde das Versuchsresultat ebenfalls nur in Ausnahmefällen verwertet.

Wie sich schon aus den Angaben über die mit den Membranen erreichbaren Genauigkeiten ergibt, trat eine wesentliche Polarisation an ihnen nie auf. Es schienen wohl Unterschiede zwischen den verschiedenen Membranmaterialien in dieser Hinsicht vorzuliegen, deren Studium in späteren Untersuchungen beabsichtigt ist, doch konnte etwa auftretende Verwaschenheit des Minimums stets durch Änderung des Dämpfungswiderstandes am Telephon behoben werden.

Für die Verwertung der Widerstandsausschläge unter dem Einfluß der Narkotica war nun maßgebend die Berücksichtigung der Widerstandskapazität der verwendeten U-Röhrchen. In Ansehung dessen, daß die Distanz der Elektroden nur wenige cm betrug und der Querschnitt der vertikalen Schenkel 1 qcm überstieg, war ihr Betrag von ungefähr 30 bis 50 sehr hoch. Ausschlaggebend für den Gesamtwiderstand der Röhrchen war also allein die Leitfähigkeit in dem kleinen Gebiet der Verengerung in der Mitte des horizontalen Schenkels, also der Raum, den bei den mit Membran versehenen Röhrchen zu einem bedeutenden Teil die Membran selbst einnahm. Die übrigen Teile des Röhrcheninhalts können demgegenüber ganz vernachlässigt werden, und selbst große Prozentualänderungen an ihnen können nur einen sehr kleinen Prozentualeinfluß auf den Widerstand des gesamten gemessenen Gebietes haben. Man kann also praktisch die Meßergebnisse so ansehen, als ob die Elektroden unmittelbar an den beiden Grenzflächen der Membran angelegt wären. Daher gibt ein Vergleich der prozentualen Änderungen des Widerstands der einzelnen Membranen nach den verschie-

denen geprüften Einflüssen unter sich und mit den Prozentualänderungen der Kontrollgefäße ohne weiteres ein eindeutiges Bild von dem Unterschied des Effekts an den verschiedenen Membranen. Es werden daher die Meßresultate in den im nächsten Abschnitt folgenden Versuchsprotokollen in dieser Weise umgerechnet und dann miteinander verglichen.

VII. Versuche und Versuchsergebnisse.

Ein Teil aus der großen Menge der angestellten Versuche konnte im vorigen Abschnitt behandelt werden; er lieferte die allgemeine Orientierung über alles, was bei der Anstellung dieser Versuche zu beachten ist. Nach Ausschaltung jener Reihen, die also ihre Brauchbarkeit als Vorversuche erwiesen, bleibt nur eine verhältnismäßig geringe Zahl von Versuchsreihen übrig, denen eine größere Verwertbarkeit zukommt. Die Protokolle dieser 18 Versuchsreihen sind im Anhang[1]) ausführlich wiedergegeben.

In den Tabellen gibt die erste Kolonne den Monatstag, die zweite die Stunde desselben, in der die Messung vorgenommen wurde, an. Die dritte Kolonne enthält das Ergebnis der Messung in Ohm (W), die vierte die Veränderung des Widerstandes unter dem Zusatz eines der zu prüfenden Stoffe, also die Differenz des nunmehr gefundenen Widerstands und des zuletzt vor Zusatz des Stoffes festgestellten (W_0) in absoluten Ohmzahlen (ΔW); da in vielen Fällen erst nach einer gewissen Zeit, also nach mehreren Messungen, das Maximum dieser Änderung erreicht war, in manchen Fällen entsprechend der Flüchtigkeit der zugesetzten Substanz nach weiteren Messungen wieder ein Abfall von ΔW erfolgte, so wurde diese Kolonne nur an der Stelle der maximalen Widerstandsänderung ausgefüllt. Das beigefügte Vorzeichen gibt an, ob eine Vermehrung (+) oder eine Verminderung (—) des Widerstandes stattgefunden hat. Da im allgemeinen eine vollkommene Rückkehr zu dem ursprünglichen Niveau zur Vorbedingung der Verwertbarkeit der gefundenen Änderung gemacht ist, so wurde nach Wiederentfernung des zugesetzten Stoffes und nach Erreichung des Gleichgewichtes mit der nunmehr wieder umspülenden reinen Kochsalzlösung nochmals die Differenz des zu dieser Zeit gefundenen Widerstandes gegenüber dem Maximum der vorausgegangenen Widerstandsänderung bestimmt und an dieser Stelle in der gleichen Rubrik eingetragen; diese zweite Zahl ΔW mußte im allgemeinen das umgekehrte Vorzeichen wie die vorausgehende tragen und die algebraische Summe beider mußte gleich Null sein. Die fünfte Kolonne gibt die prozentuale Widerstandsänderung bezogen auf das ursprüngliche oder

[1]) S. 239 ff.

zuletzt wiedererreichte Normalniveau von W, also auf W_0 an, sie enthält demgemäß die Zahl $\frac{\Delta W \times 100}{W_0}$. In der sechsten Kolonne endlich finden sich die Prozeduren verzeichnet, die zu der in den ersten beiden Kolonnen verzeichneten Zeit mit dem Membrangefäß vorgenommen wurden, daneben zuweilen Bemerkungen über etwa beobachtete Vorgänge an der Membran. Die Veränderungen der Umspülungsflüssigkeit, die in dieser Rubrik hauptsächlich vermerkt sind, wurden stets erst **nach** Ausführung der in der gleichen Zeile vermerkten Messung vorgenommen. Die angegebenen Konzentrationen der Zusätze sind so zu verstehen, daß die gesamte in den Schenkeln des U-Röhrchens vorhandene Menge Salzlösung (10 ccm) durch Zusatz geeigneter Mengen Standlösung auf diesen Gehalt an dem zugesetzten Stoff gebracht ist. Die Angabe „Kochsalzlösung" bedeutet, daß die zuvor vorhandene, Zusätze enthaltene Kochsalzlösung entfernt und durch reine Kochsalzlösung ersetzt wurde.

Zu jeder der Tabellen gehört eine der gleichfalls im Anhang beigegebenen Kurven. In ihnen geben die Zahlen der Abszisse die Monatstage, die der Ordinate den Widerstand in Ohm an. An den durch aufsteigende Pfeile unter der Kurve markierten Punkten wurde der daneben verzeichnete Zusatz vorgenommen; abwärts weisende Pfeile über der Kurve bezeichnen dessen Wiederentfernung und Ersatz durch reine Salzlösung.

Wie man schon aus den Kurven erkennen kann, sind auch diese Versuchsreihen nur zum Teil verwendbar; denn die Vorbedingung des konstanten Normalniveaus ist nicht immer erfüllt. Es lassen sich indessen mehrere Typen der Abweichung von diesem idealen horizontalen Kurvenverlauf erkennen. Der eine Typus ist der, dessen Ursachen bei der Phrenosinmembran a besonders deutlich zutage treten. Die Betrachtung zeigte hier, daß die ständige spontane Zunahme des Widerstandes auf eine eingetretene Verschiebung zurückzuführen ist; die Gummischeibe selbst hatte sich in den Weg der Stromlinien geschoben. Bei den beiden Natriumstearatkurven wäre man versucht, einen gleichen Vorgang für die dauernde Zunahme anzuschuldigen. Allein diese Zunahme war auch in Vorversuchen mit dem gleichen Material eine so regelmäßige, daß es dahingestellt bleiben mag, ob hier die gleiche Erklärung wie bei der Phrenosinmembran zutrifft, um so mehr als die nachträgliche Besichtigung, die selbstverständlich bei allen Membranen vorgenommen wurde, bei ihnen keine Anhaltspunkte für die Annahme einer Ver-

schiebung ergab. Dem Typus dieser spontan ansteigenden Kurve steht nun der der ständig spontan absteigenden gegenüber. Bei den Lecithinkurven ist die Ursache zum Teil schon während der Messungen selbst zutage getreten; die Membran, die im entquollenen Zustande einen sehr hohen Widerstand hat, nimmt während des Quellens ständig an Leitfähigkeit zu. Zugleich aber sprengen oder durchdringen die quellenden Massen die Filtrierpapierhülle, verlassen den Verband der Membran und schwimmen frei in die Flüssigkeit hinaus. Ist dann die Membran vollkommen weggespült, so stellt sich allerdings ein horizontales Niveau des Kurvenverlaufes ein, aber schon allein der niedrige Widerstand, der nach dieser Einstellung zu finden ist, muß den Verdacht aufdrängen, daß man es von diesem Augenblick an gar nicht mehr mit der gewünschten Membran zu tun hat. Und die nur noch unbedeutenden Ausschläge, die dann auf zuvor wirksame Zusätze erhalten werden, bestätigen, daß man es nur noch mit einer Filtrierpapiermembran oder gar einem ganz membranlosen System zu tun hat. Es wäre also in solchem Falle verfehlt, die Messungen erst dann zu verwerten, wenn die Einstellung erfolgt ist. Freilich lassen sich auch gerade in den beiden Lecithinkurven die Ausschläge, die vorher erhalten wurden, nur mit großer Vorsicht verwenden. In der einen, b, begannen die Zusätze erst nach dem Absinken; sie können also nur als Wiederholung der Kontrollversuche am membranlosen System dienen. Bei der anderen Kurve ist das erhaltene Absinken nach Chloroformzusatz wenigstens in negativem Sinne verwertbar. Denn es zeigt sich, daß gerade bei den Manipulationen, die während des Chloroformzusatzes erforderlich waren, ein großer Teil der Membran herausgeschwommen ist, so daß die bei der nächsten Messung gefundene Widerstandsabnahme nicht dem Chloroform, sondern dieser spontanen Veränderung der Membran zuzuschieben ist. Möglicherweise ist dann die weitere Abnahme nach der Entfernung des Chloroforms der Ausdruck einer allmählichen Reversion der durch Chloroform gesetzten, aber aus den eben angeführten Gründen nicht erkennbar gewordenen Widerstandssteigerung. Freilich möchte man auch nach diesen Überlegungen mit einer endgültigen Verwertung der Lecithinkurven lieber zurückhalten. Äußerlich ähnlich ist der Verlauf bei den beiden Kephalin-

kurven; indessen sind auf Grund der nachträglichen Besichtigung der Membran und Überlegungen, die durch unsere Kenntnis von dem chemischen Verhalten des Kephalins aufgedrängt werden, hier andere Ursachen für das Absinken des Widerstandes anzuschuldigen. Zwar geht auch hier ein kleiner Teil der Membran beide Male ganz zu Anfang der Messungen durch Herausquellen verloren. Allein die hauptsächlichste Leitfähigkeitszunahme ist der chemischen Umwandlung des hydrophilen Kephalins in das hydrophobe Oxykephalin oder ein gleichfalls wenig wasserquellbares Derivat, wie etwa die Kephalinphosphorsäure, zuzuschreiben. Eine derartige Umwandlung gab sich bei der Besichtigung der Membran am Schluß der Reihe zu erkennen; das vorher infolge seiner ausgezeichneten Reinheit fast farblose und stark quellende Präparat bildete dann einen ganz dunkelbraunen feinen staubförmigen Niederschlag, der keinerlei Kontinuität mehr besaß und sich zum Teil in den unteren Teilen des Raumes zwischen den beiden Filtrierpapierscheiben abgesetzt hatte. Hier müssen also gerade nur diejenigen Kurventeile verwendet werden, die kontinuierlich absteigen, und insbesondere bei der Chloroformzacke der Kephalinkurve b ist deutlich zu erkennen, daß diese auf einen durch Interpolation leicht zu konstruierenden gleichmäßig weiter absinkenden Teil der Normalkurve aufgesetzt ist.

Nach diesen Vorbemerkungen wird klar, daß die Ergebnisse der Messungen weit davon entfernt sind, ein genau quantitatives Bild von der Widerstandsgröße unter dem Einfluß der Narkotica zu geben. Man wird aber auch erkennen, daß es falsch wäre, sich in der Verwertung auf das zu beschränken, was aus einer einzelnen Kurve ohne Berücksichtigung aller Verhältnisse zu erkennen ist. Insbesondere zeigt der Vergleich mit der Kontrollkurve am membranlosen System, daß manche Ausschläge durchaus nicht ohne weiteres als eine spezifische Veränderung der Lipoidanteile der Membranen zu betrachten sind, da sie in derselben Richtung auch an der Kontrolle erfolgen. Nur die Änderungen sind also verwertbar, welche die Lipoidmembranen von den Kontrollmembranen deutlich abweichend, also im Gegensatz zu geringen, fehlenden oder entgegengesetzt gerichteten Ausschlägen an der Kontrolle oder den Gelatinemembranen aufweisen.

Tabelle

		Kochsalzkontrolle	Filtrierpapierkontrolle	Gelatinekontrolle		Kephalin a)	Kephalin b)
Chloroform	0,06 m	+ 3,4	+ 4,2 [ber.]				
	0,03 m	+ 0,6	+ 2,1	+ 1,8 + 1,7 + 1,6	+ 4,9	+ 27,3	+ 15,2
Alkohol	0,87 m	+ 9,4	+ 10,3	+ 11,5	+ 9,9	+ 9,3	+ 16,6
	0,44 m	+ 4,7 [ber.]	+ 5,1			+ 6,8	
Äther	1,03 m	+ 18,7					
	0,52 m	+ 9,4	+ 13,0		+ 9,2	+ 23,7	
Chloralhydrat	0,50 m	− 15,7					
	0,25 m	− 9,7	− 9,9				
	0,13 m	− 4,4 [ber.]	− 4,9 [ber.]	− 4,4	− 7,2		[− 3,6]
Isopral	0,06 m	± 0	+ 4,2		+ 3,2	± 0	
Morphinchlorhydrat	0,03 m	+ 2,1	+ 1,4	+ 1,1			
Strychninnitrat	0,03 m	± 0	± 0				
Harnstoff	0,80 m	− 25,3 − 12,7 [ber.]		− 24,5			

* Mittelwerte aus 2 differenten Einzelwerten.

In den Tabellen I und II sind die Änderungen des Membranwiderstandes unter dem Einfluß der geprüften Stoffe zusammengestellt. In der Tabelle I finden sich zunächst nochmals die $\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$-Zahlen der Versuchsprotokolle in der Weise aufgeführt, daß aus den beiden zusammengehörigen, nach Zusatz des Stoffes und nach dessen Wiederausspülung gefundenen Zahlen das Mittel genommen wurde. Ausgeschaltet wurden dabei alle Messungen, bei denen diese beiden Zahlen nicht entgegengesetztes Vorzeichen trugen.

Es ist zu berücksichtigen, daß nach der im vorigen Abschnitt gemachten Angabe über die Genauigkeitsgrenze der Messungen alle Zahlen unter 3 vernachlässigt werden müssen.

In der nächsten Tabelle II finden sich dann die Differenzen zwischen den Prozentualausschlägen der übrigen Membranen und denen der reinen Filtrierpapiermembranen zusammengestellt.

I.

Lecithin		Cholesterin		Phrenosin		Tristearin		Natrium-stereat		Natrium-ricinolat	
a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)
			+ 18,9								
	+ 1,9	+ 4,6		+ 4,0	+ 23,7		+ 5,9		+ 5,8	+ 14,3	
[+ 32,5]	+ 4,5		+ 7,7					+ 7,4			+ 6,7
[+ 19,6]		+ 3,7		+ 3,5	[+ 1,7]	+ 4,1	+ 2,2		+ 1,4	+ 8,0	
	+ 9,1	+ 10,3		[+ 8,5]*	+ 10,1 + 4,3	+ 11,5		+ 6,2	+ 3,2	+ 7,2	+ 9,8
			[+ 2,5]*				+ 4,3				
	+ 9,2	+ 15,8	+ 17,1		+ 15,0	+ 8,7		+ 5,1		+ 10,8	+ 10,9
			− 6,2				− 7,9	?	− 7,4	+ 9,4	
					− 5,5		− 8,2				
		+ 9,5	+ 5,7		+ 12,7	+ 2,5		+ 50,0		+ 2,1	+ 9,3
			± 0	+ 4,0	± 0	± 0	+ 1,1		+ 3,3	± 0	± 0
		+ 3,6				+ 3,0		+ 3,9			± 0
					− 22,7						

Umrahmt sind diejenigen Ziffern, die deutliche Unterschiede erkennen lassen, durchstrichen diejenigen, die aus einem der oben angeführten Gründe nicht endgültig verwertet werden können. Und zwar wurden, um den möglichst ungünstigen Fall zu wählen, stets die für das Filtrierpapier gefundenen Maximalzahlen abgezogen.

Es geht aus dieser Tabelle hervor, daß die Ausschläge doch in vielen Fällen sehr bedeutend sind. Berücksichtigt man obendrein noch, daß die bei der Filtrierpapiermembran gefundenen Ausschläge mit wenigen Ausnahmen nur sehr unbedeutend sind, so werden die gefundenen Differenzen dadurch besonders wichtig, daß sie oft ein beträchtliches Vielfaches dieser Ausschläge an der Papier- und auch an der Gelatinemembran darstellen.

So sind die durch Chloroform bewirkten Widerstandssteigerungen beim Kephalin 6 bis 8 mal, beim Cholesterin 2,5 mal, beim Phrenosin 4 mal, und bei dem allerdings nur mit Vorsicht verwertbaren Ausschlag an der Lecithinmembran 8 bis 10 mal größer als die Änderung der Gelatinemembran

Tabelle II.

		Gelatine		Kephalin		Lecithin		Cholesterin		Phrenosin		Tristearin		Natrium stearinicum		Natrium ricinolicum	
		∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.	∅	Max.
Chloroform	0,06 m							+15		+22							
	0,03 m	0	+3	+19	+25	+24	+30	+3	+6	+1	+2	+2	+4	+3	+5	+8	+12
Alkohol	0,87 m	0	+1	+3	+6			0		0		+1		−5	−4	−3	−1
	0,44 m			+2						0		0		−1			
Äther	0,52 m	−4		+11				+3	+4	+6		−4		−8		−3	
Chloralhydrat	0,25 m							+3				+2		+2		0	
	0,13 m	0	−2	[+1]						0		+3					
Isopral	0,06 m	−1		0				+3	+5	(+9)		−2		+46		+2	+9
Morphinchlorhydrat	0,03 m	0						0		+1	+3	0		+2		0	
Strychninnitrat	0,03 m							+4				+3		+4		0	

im Vergleich zu der der Filtrierpapiermembran gegenüber dem membranlosen System. (Ein solcher Vergleich gibt am besten Auskunft darüber, wie sich das Verhalten der lipoiden Membranen von dem einer nichtlipoiden, als deren Typus die Gelatinemembran gewählt ist, unterscheidet.) Während die Gelatinemembran sich meist nicht anders verhält als das auch an ihr in doppelter Schicht vorkommende Filtrierpapier, sind die Ausschläge von seiten des lipoiden Inhalts der Filtrierpapierhülle meist sehr wesentlich verschieden von denen, die die Hülle allein gibt.

Der Alkohol, der sowohl die Leitfähigkeit des membranlosen Systems wie die des Filtrierpapiers bedeutend herabsetzt, macht nur noch an den Kephalinmembranen eine darüber noch wesentlich hinausgehende Widerstandssteigerung. Sie beträgt immerhin das 3 bis 6fache des Unterschiedes zwischen Gelatine und Papier.

Der Äther wiederum macht keinen Unterschied zwischen Gelatine und Papier, dagegen steigert er außerordentlich den Widerstand von Kephalin, Cholesterin und Phrenosin.

Das Chloralhydrat bedingt bei dem membranlosen System und ähnlich auch beim Filtrierpapier eine bedeutende Leitfähigkeitserhöhung. Diese den übrigen Substanzen mit Ausnahme des Harnstoffs entgegengerichtete Wirkung macht sich auch an lipoiden Membranen bemerkbar; sie findet ihre Erklärung vielleicht darin, daß Chloralhydrat — freilich sind bisher nur ziemlich konzentrierte Lösungen untersucht — gewisse Gele (z. B. auch Stärke) quellen läßt[1]). Allerdings hat es zuweilen den Anschein, als ob die Leitfähigkeitserhöhung geringer wäre als bei den Kontrollen. So erfährt z. B. Gelatine durch Chloralhydrat eine weitere Erhöhung der Leitfähigkeit als Papier, während die an den Lipoiden gefundene sogar noch geringer ist als die des Papiers.

Trichlorisopropylalkohol (Isopral) bewirkt eine deutliche Widerstandserhöhung an der Cholesterin- und der Phrenosinmembran, ebenso beim ricinolsauren Natrium. Die kolossale Steigerung an der Membran aus stearinsaurem Natrium möchte man als alleinstehenden sehr auffälligen Fall zunächst noch nicht verwerten.

[1]) R. Mauch, Arch. f. Pharmazie 240, 113, 1901. Zitiert nach Freundlich, Kapillarchemie, S. 508.

Die beiden geprüften Alkaloide unterscheiden sich jedenfalls von den bisher aufgezählten narkotischen Stoffen sehr wesentlich. Ein deutlicher Einfluß ist trotz ihrer bedeutenden Konzentration nicht festzustellen.

Als sicher kann man bei aller Unverwertbarkeit in quantitativer Hinsicht betrachten, daß die Narkotica den Widerstand lipoider Membranen teilweise sehr bedeutend erhöhen. Die Wirkung hängt zunächst von der Natur des Narkoticums ab. Es muß weiteren Versuchen nach Vervollkommnung der Methodik vorbehalten bleiben, diesen Einfluß der verschiedenen Narkotica quantitativ zu vergleichen. Weiter ist die Wirkung offensichtlich abhängig von der Natur des Membrankolloids. Während Nichtlipoide von den meisten Narkoticis gar nicht oder höchstens im umgekehrten Sinne beeinflußt werden, wirken an den verschiedenen Lipoiden die verschiedenen Narkotica anscheinend in sehr wechselndem Grade, und es eröffnen sich dadurch Aussichten, manche der spezifischen Wirkungen einzelner Narkotica auf eine solche Differenz ihrer Angriffspunkte zurückzuführen. Je nach dem Mischungsverhältnis der einzelnen Lipoide in den verschiedenen Organen, speziell den verschiedenen Gebieten des zentralen und peripheren Nervensystems, wird man eine verschiedene Wirksamkeit der einzelnen Narkotica erwarten müssen. Eine weitere Variationsmöglichkeit in den Einzelheiten der Wirkung ist darin gegeben, daß manche Narkotica (Alkohol, Chloralhydrat) auch Wirkungen auf nichtlipoide Membranen ausüben.

Schließlich scheinen auch Substanzen, die nicht Lipoide im engeren Sinne sind, aber ihnen chemisch sowohl wie physikalisch-chemisch nahestehen, in wechselndem Grade einem ähnlichen Einfluß der Narkotica zu unterliegen, nämlich die Triglyceride und die fettsauren Salze. Ihr Vorkommen in sämtlichen narkotisierbaren Gebilden ist wahrscheinlich, und sonach dürften sich auch diese gemäß ihrer wechselnden Beeinflußbarkeit durch verschiedene Narkotica an Einzelheiten ihrer Wirkung beteiligen.

Weitaus überragend ist freilich der Einfluß, den die Narkotica auf die Lipoide im eigentlichen Sinne ausüben, und darum dürften die Lipoide, wie dies schon in den früheren Theorien zum Ausdruck kam, in der Tat die wesentlichsten Substrate der narkotischen Vorgänge abgeben.

VIII. Zusammenfassung.

Aus den hier mitgeteilten Untersuchungen ist zunächst für die physikalische Chemie ganz allgemein ein Ergebnis zu entnehmen. Es wird eine Methode beschrieben und als brauchbar erwiesen, die es gestattet, die Permeabilität von Membranen zu untersuchen und im besonderen Aufklärung zu gewinnen über die Änderungen, denen diese wichtigste Membranfunktion unter beliebigen Einflüssen unterliegt. Diese Methode besteht in der Prüfung der Membrandurchlässigkeit für Ionen mit Hilfe der Messung der Leitfähigkeit der Membran. Zu diesem Zwecke mußte das Verfahren der Leitfähigkeitsmessung in mancher Hinsicht modifiziert werden. Es wurde vor allem ein Apparat ausgearbeitet, um die neuen Objekte der Leitfähigkeitsmessung zugänglich zu machen. Während zahlreiche Methoden ausgearbeitet sind, um die Zustandsänderungen von solförmigen kolloiden Systemen nach allen Richtungen zu untersuchen, fehlte bisher ein Verfahren von auch nur annähernd der gleichen Brauchbarkeit zur Untersuchung der gleichen Fragen an gelförmigen Systemen. Daher steht zu erwarten, daß mit Hilfe der hier angegebenen Methode zahlreiche bisher ungeklärte Eigenschaften der Gele ihrer Lösung nähergebracht werden können.

Die Brauchbarkeit der ausgearbeiteten Methode wird an einem besonderen, in physiologischer wie in pharmakologischer Hinsicht gleich wichtigen Beispiel gezeigt, nämlich der Veränderung der Leitfähigkeit lipoider Membranen unter dem Einfluß indifferenter Narkotica. Dabei konnte gezeigt werden, daß im Gegensatz zu Membranen aus nichtlipoidem Material, die gewöhnlich durch die Umspülung mit Lösungen narkotischer Stoffe keine wesentliche Veränderung ihrer Leitfähigkeit erkennen lassen, die lipoiden Membranen im allgemeinen eine je nach der Natur des Lipoids und des Narkoticums wechselnd hohe Leitfähigkeitsverminderung erleiden. Diese Feststellung erlaubt nun zunächst in Gemeinschaft mit anderen eigenen und fremden Untersuchungen, sich eine exakte Vorstellung von der Zustandsänderung eines lipoiden Gels unter dem Einfluß eines Narkoticums zu machen.

Der Schlüssel für sämtliche Beziehungen zwischen Lipoiden und indifferenten Narkoticis wird durch meine früheren Untersuchungen zur physikalischen Chemie der Lipoide geliefert. In

ihnen wird dargetan, daß die Grundlage der Beziehungen zwischen beiden die hohe Adsorbierbarkeit der Narkotica durch die Lipoide ist. Ein lipoides Teilchen muß sich also, wenn sein Dispersionsmittel ein Narkoticum enthält, mit einer Adsorptionshülle aus Narkoticum umgeben. Für den Zustand eines kolloiden Systems sind nun die Eigenschaften der Oberflächenschicht der dispersen Phase von Wichtigkeit, die im wesentlichen eine Funktion seiner Hydrophilie sind, wie sie für die Teilchen der Lipoidsole durch Porges und Neubauer erwiesen worden ist. Diese durch das Wasserverbindungsvermögen hydrophiler Teilchen bedingten Eigenschaften der Oberflächenschicht gehen nun, wie Handovsky und Wagner gleichfalls für die Hydrosole der Lipoide gezeigt haben, durch die Anreicherung von Narkoticum in der Oberflächenschicht verloren. Besteht die Oberflächenschicht des lipoiden Teilchens aus Narkoticum, so verlieren die Teilchen ihre frühere Hydrophilie, ihre Sole verhalten sich wie die Sole lyophober Kolloide. Da aber dieses Verhalten nur von der Oberflächenschicht abhängt, so bleibt dabei zunächst die Frage noch ganz offen, ob durch den Vorgang der Adsorption von Narkoticum die Teilchen ihres gesamten Bindungswassers beraubt werden, oder ob dieses nur in seinen Beziehungen zu benachbarten Gebieten beeinflußt wird.

Diese Frage wird nun durch die vorliegenden Untersuchungen an lipoiden Gelen beantwortet. Wenn durch den Vorgang der Narkoticumadsorption die Leitfähigkeit vermindert wird, so kann dies nur durch einen Prozeß der zweiten Art geschehen. Nur in diesem Falle wird das Bindungswasser nicht abgegeben und somit nicht frei für einen erleichterten Transport von Ionen. Denn sonst würde es die Masse des am besten für den Strom passierbaren freien Dispersionsmittels vermehren. Die Teilchen, an denen das Bindungswasser durch Narkoticum verdrängt würde, könnten an Volumen höchstens unverändert bleiben; in unserem konkreten Falle würde ihr Volumen bei einem solchen Vorgang sicherlich bedeutend verringert werden. Denn die Menge gebundenen Wassers, die sich am Aufbau des Geles beteiligt und somit am Volumen des einzelnen Komplexes: Lipoidteilchen-Bindungswasser, ist sehr bedeutend; die überhaupt zur Adsorption zur Verfügung stehende Menge von Narkoticum dagegen ist, wie man sich aus Volumen und Konzentration der

zugesetzten narkotischen Lösung leicht berechnen kann, nur sehr gering. Schon aus diesem Grunde ist es kaum denkbar, daß das zuvor am Lipoidteilchen fixierte Wasser einfach entbunden würde. Man wird sich vielmehr die plausiblere Vorstellung bilden, daß das Herantreten der die Leitfähigkeit verringernden Teilchen von Narkoticum die Leitfähigkeit des gesamten Komplexes Lipoid-Bindungswasser herabsetzt. Der Eintritt von Narkoticum in ein gelförmiges System, dessen disperse Phase ein Lipoid ist, führt also wahrscheinlich zur Umwandlung der lyophilen Lipoidteilchen in lyophobe ohne Verlust des Bindungswassers.

Ein solcher Vorgang war in Gelen bisher unbekannt. Dagegen läßt sich in Solen, außer den Feststellungen von Handovsky und Wagner, noch eine Erscheinung anführen, die einer Deutung im gleichen Sinne zugänglich sein könnte. Dieser Vorgang ist die Veränderung der hydrophilen Saponarinsole durch Jodadsorption, die von G. Barger[1]) studiert worden ist. Nach Zusatz von wässeriger Jodlösung zu einem solchen Sol tritt die blaue Farbe des kolloiden Jods auf; die Teilchen verhalten sich also schon optisch so, als ob sie durchgehends aus kolloidem Jod bestünden. Gleichzeitig verleiht aber die Jodadsorption den zuvor hydrophilen Saponarinlösungen die Eigenschaften von hydrophoben Systemen. Aus seinen ferneren noch unveröffentlichten Untersuchungen hat der Autor[2]) keinerlei Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß diese Umwandlung des Zustands mit einer Abgabe von Bindungswasser einhergeht.

Es ist nun die Frage zu erörtern, inwieweit die so geklärten Zustandsänderungen lipoider Gele zur Erkenntnis des Mechanismus der Narkose lebender Gebilde dienen können. In den früheren Abschnitten ist ausführlich dargelegt worden, daß einerseits die Beteiligung lipoider Teilchen an sämtlichen gelförmigen Strukturen der Organismen äußerst wahrscheinlich ist, und daß andererseits die augenfällige und von jeher bemerkte Affinität der narkotischen Stoffe zu den Lipoiden den nächstliegenden nicht nur, sondern bis heute überhaupt den einzigen Anknüpfungspunkt für solche Erklärungsversuche bietet. So

[1]) G. Barger und Ellen Field, Transakt. of the Chemical Society **101**, 1394, 1912.

[2]) Laut persönlicher Mitteilung.

sind denn alle vor einer Kritik nicht sofort unhaltbar werdenden Narkosetheorien auf diesen Beziehungen zu den Lipoiden aufgebaut. Alle älteren Vorstellungen von dem tieferen Wesen dieser Beziehung erfahren eine Korrektur und Klärung durch meine früheren Untersuchungen über den Mechanismus dieser Beziehungen. Auf der Basis dieser Untersuchungen und der vorliegenden sie ergänzenden darf also zu einem Aufbau einer klareren Narkosetheorie geschritten werden.

Die Narkose als ein Eingriff, dem alle lebenden Gebilde unterliegen, muß sich zunächst an der ihnen allen gemeinsamen allgemeinsten Lebensäußerung, dem Stoffaustausch, bemerkbar machen. Da das Transportmittel aller ausgetauschten Stoffe nach der nächstliegenden und bisher durch keine Hypothese erschütterten Annahme das Wasser ist, muß jene allgemeinste Lebensäußerung daniederliegen, wenn die Masse des zur Verfügung stehenden Transportmittels verringert wird. Dies geschieht aber bei der hier analysierten Zustandsänderung der lipoidhaltigen Gele. Es ist zwar verständlich, daß das in den hydrophilen Komplexen gebundene Wasser sich in mancher Hinsicht von dem freien Transportmittel unterscheidet und unter anderem auch die Beweglichkeit der gelösten Stoffe in ihm modifiziert ist, allein es ist kein Grund zu der Annahme vorhanden, daß es schon von vornherein außerstande ist, sich an dem Transport wasserlöslicher Stoffe überhaupt zu beteiligen. Dagegen ist verständlich, daß es in dieser Fähigkeit nach der Adsorption von Narkoticum an die Komplexe weitgehend beeinträchtigt wird.

Außer der Funktion des Stoffaustausches wird aber auch eine andere allgemeine Funktion der lebenden Materie geschädigt werden, nämlich die Fähigkeit des Stoffauf- und -abbaus. Die Fermentreaktionen, mit deren Hilfe diese beiden Vorgänge in vielen Fällen zustande kommen, werden durch die Zustandsänderung der Kolloide, an die sie nach allem, was wir darüber wissen, gebunden sind, sicherlich häufig modifiziert, u. a. wohl in ähnlicher Weise, wie dies in den beiden im ersten Abschnitt gegebenen fiktiven Beispielen, besonders in deren zweitem, angedeutet ist.

Auch inwieweit Sauerstoffstoffwechsel und Narkose miteinander in Beziehung gebracht werden können, läßt sich nun ver-

muten. Daß Sauerstoffmangel, Erstickung, nicht die primäre Ursache des narkotischen Zustandes sein kann, wie dies Verworn und seine Schule behauptet, geht aus den schlagenden Gegenbeweisen der früher erwähnten Autoren hervor. Nach unseren Feststellungen kann aber immerhin eine sekundäre Schädigung der Oxydationsvorgänge vorgestellt werden. Zunächst einmal werden die oxydativen Fermentreaktionen in der gleichen Weise beeinträchtigt werden können, wie alle anderen fermentativen Vorgänge. Ob auch die Sauerstoffzufuhr leiden kann, wird davon abhängen, ob eine verringerte Permeabilität der „narkotisierten" Gele für Sauerstoff nachgewiesen werden kann. In jedem Falle aber bleibt die Erstickung immer nur eine Folgeerscheinung jener Vorgänge, die das eigentliche Wesen der Narkose ausmachen, eine Folgeerscheinung, die vielen anderen an die Seite gestellt, aber wohl niemals allen anderen übergeordnet werden kann.

In besonders auffälliger Weise äußert sich nun der Zustand der Narkose an bestimmten Organen mit differenzierterer Funktion. Auch bei ihnen allen kann an ein Gemeinsames angeknüpft werden: ihre spezifischen Funktionsäußerungen sind begleitet von bioelektrischen Erscheinungen, und die Narkose setzt eine Veränderung dieser Begleitvorgänge. Alle Theorien zur Erklärung der bioelektrischen Ströme setzen Membranen voraus, erkennen also die Bedeutung von Kolloiden für deren Zustandekommen an. Die einleitend als die plausibelste wiedergegebene Membrantheorie von Bernstein und Höber nimmt diffusionselektromotorische Kräfte an, die ihr Vorhandensein der elektiven Ionenpermeabilität der Membran verdanken. Diese elektive Ionenpermeabilität ist, wie wiederholt auseinandergesetzt wurde, wahrscheinlich in das Bindungswasser der Kolloidkomplexe zu verlegen. Die Lipoidnatur der hydrophilen Komplexe, deren besondere Permeabilität diese elektrischen Erscheinungen zustande bringt, möchte man vielleicht schon darin angedeutet sehen, daß die Narkose so einschneidende Veränderungen der elektromotorischen Membrankräfte hervorruft. Noch wahrscheinlicher wird ihre Lipoidnatur durch die Untersuchungen von J. Loeb und R. Beutner[1]); sie konnten nämlich die bio-

[1]) Diese Zeitschr. 51, 288, 1913.

elektrischen Potentialdifferenzen, die sie eingehend an gewissen pflanzlichen Organen studiert hatten, ganz analog nur an Systemen mit einer lipoidhaltigen Phase nachahmen.

Die Potentialdifferenz an der intakten Membran wird nun erschlossen aus dem Auftreten eines Stromes nach Verletzung der Membran. Dabei verhält sich die verletzte Stelle negativ gegenüber der intakten (Ruhestrom). Ganz gleichartige Ströme treten auf, wenn die Membran nicht verletzt, aber in ihrem Zustand verändert wird. Stets ist dann die Membranstelle, an der sich die Veränderung abspielt, negativ gegenüber der intakten. Diese Veränderung tritt auf: a) wenn eine Stelle der Membran von der Welle der fortgeleiteten physiologischen Erregung passiert wird (Negativitätswelle, Aktionsstrom), b) wenn eine Stelle der Membran mit bestimmten Ionen behandelt wird (Salzruhestrom). Aus der Ähnlichkeit der Erscheinungen in diesen beiden letzten Fällen und in dem Falle der mechanischen Kontinuitätstrennung der Membran wird nun abgeleitet, daß sich die Membran bei den beiden Vorgängen a) und b) so verhält, „als ob sie ein Loch hätte". Für den Salzruhestrom wird angenommen, daß eine Zustandsänderung unter dem Einfluß der applizierten Ionen eintritt, die die elektive Permeabilität der Membran verringert, die freie erhöht, wie man sich dies etwa bei einer Entquellung der einzelnen Teilchen unter dem Einfluß gewisser Ionen vorstellen könnte („Auflockerung" Höbers). Und die normale Erregungsleitung denkt man sich an eine ähnliche Zustandsänderung der Membran geknüpft. Es werden also zwei Zustände der Membran unterschieden, der Normalzustand der Membran, gekennzeichnet durch ihre elektive Ionenpermeabilität, deren Folge eine latente Potentialdifferenz an ihr ist, vergleichbar der eines offenen Elements, und ein Zustand des Verlustes dieser elektiven Permeabilität, in dem dann die veränderte Membranstelle den äußeren Stromkreis des zuvor offenen Elements schließt.

In der Narkose ist nun die Möglichkeit der Negativierung durch die Erregungswelle wie durch die Salzapplikation aufgehoben. Der eigenartige Zustand der Membran während der Narkose hat durch unsere Leitfähigkeitsuntersuchungen eine gewisse Aufklärung erfahren. Wie kann er mit jener gleichzeitigen Änderung des elektrischen Zustandes in Beziehung ge-

bracht werden? Wir haben gesehen, daß die Beziehungen der hydrophilen Teilchen zu ihrer Umgebung durch die Adsorption von Narkoticum beeinträchtigt werden. Sie werden also für äußere Einflüsse unzugänglicher sein und Effekte von der Art der wirksamen Ionen oder der normalen Erregungswelle können demnach an den ihnen weniger zugänglichen Komplexen schlechter oder gar nicht zur Wirkung kommen. Der negativierende Einfluß beider Vorgänge muß fehlen, wie dies in der Tat der Fall ist. Es wird also verständlich, warum als auffälligster Effekt der Narkose die Aufhebung der natürlichen, offenbar an die Negativierung gebundenen Erregungsleitung eintritt. Auch das Fehlen der elektrischen Erregbarkeit wird verständlich; die elektrische Erregung beruht nach der Nernstschen Theorie auf einer polarisatorischen Konzentrationsänderung an der Membran. Da aber durch die Adsorption von Narkoticum die elektive Permeabilität aufgehoben ist, muß auch die auf ihr beruhende Polarisierbarkeit durch den applizierten elektrischen Strom fehlen.

Diese Vorstellungen haben freilich nur den extremsten Fall im Auge. In Wirklichkeit wird wohl nur eine Annäherung an solche Verhältnisse eintreten. Das kommt z. B. darin zum Ausdruck, daß die Negativitätswelle der Erregungsleitung nicht immer aufgehoben, sondern nur abgeschwächt wird, und daß Höber[1]) beispielsweise den Salzruhestrom eines narkotisierten Muskels zwar nicht ganz fehlen, aber nur ganz allmählich sich entwickeln sah.

Es erhebt sich endlich noch die Frage, ob denn nicht die Narkose mit den übrigen Änderungen des elektrischen Zustandes das gemeinsam hat, daß in allen drei Fällen (Salzwirkung, Erregung, Narkose) die elektive Permeabilität der Membran fortgefallen ist. Trotz des verschiedenen Mechanismus dieser Änderung, der durch entgegengesetzte Änderung der Leitfähigkeit zum Ausdruck kommt, ist dann auch eine gleichsinnige elektrische Änderung als Folge der übereinstimmenden Permeabilitätsänderung zu erwarten, die sich bei Messung der Potentialdifferenz zeigen müßte. Dies müßte sich bei der Narkose darin äußern, daß die narkotisierte Stelle ebenfalls negativer

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 492, 1907.

als eine normale wäre. Die neuesten Untersuchungen von Loeb und Beutner[1]) scheinen dies zu bestätigen. Denn sie fanden in der Tat eine Abnahme der Potentialdifferenz in der Narkose, also ein Negativwerden der narkotisierten Membranstelle gegenüber der intakten.

IX. Ergebnisse.

1. Aus logischen und Zweckmäßigkeitsgründen ist die Anwendung der Bezeichnung „Membran" in der physikalischen Chemie nur auf solche Gebilde zulässig, die außer der besonderen Form noch ein Merkmal der Struktur, nämlich die Mehrphasigkeit eines kolloiden gelartigen Systems besitzen.

Bei dieser Begriffsfassung können die Membraneigenschaften zurückgeführt werden auf den Zustand eines solchen Systems und Änderungen der Membranfunktionen identifiziert werden mit Änderungen dieses Zustandes.

2. An der Hand einer Kritik der bestehenden Narkosetheorien wird die Unhaltbarkeit aller Vorstellungen dargetan, die dem Substrat der narkotischen Vorgänge andersartige Eigenschaften unterschieben und gezeigt, daß das mutmaßliche Substrat der Narkose als ein unter den schärfer gefaßten Membranbegriff fallendes System behandelt werden kann.

3. In einem solchen System können die hydrophilen Kolloidteilchen als Träger der spezifischen — im besonderen der elektiven Permeabilitäts- — Eigenschaften angenommen werden, ferner müssen als wichtige Membrankomponenten Lipoide in Rücksicht gezogen werden.

4. Der Narkosevorgang besteht in einer eigenartigen Zustandsänderung eines solchen Systems.

5. Zu früheren eigenen Untersuchungen, die die hohe Adsorbierbarkeit der Narkotica durch Lipoide erwiesen hatten, treten experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen der Leitfähigkeit lipoider Membranen. Aus ihnen ergibt sich, daß die Leitfähigkeit solcher Membranen durch die Behandlung mit narkotischen Lösungen in spezifischer Weise vermindert wird.

6. Auf Grund dieser experimentellen Feststellungen und unter Heranziehung aller früheren Untersuchungen durfte eine ausführliche Vorstellung von dem Wirkungsmechanismus der

[1]) Diese Zeitschr. **51**, 300, 1913.

Narkotica entwickelt werden; sie erlaubt den Narkosevorgang auf folgende einfache Formel zu bringen: Durch Adsorption der Narkotica werden die hydrophilen Lipoidteilchen des lebenden Substrats in hydrophobe verwandelt ohne Verlust ihres Bindungswassers. Dadurch kommt erstens ein Verlust an Permeabilität des Substrates überhaupt zustande, womit eine allgemeine Schädigung der normalen Funktionen verknüpft ist; zweitens aber ist im besonderen dort, wo das Substrat noch weiter differenziert ist, eine Verminderung der elektiven Permeabilität die Folge, woraus eine Abschwächung der auf dieser beruhenden bioelektrischen Potentialdifferenzen und damit eine Schädigung der spezifischen Funktionen dieser Membranen entsteht.

(Die Kosten dieser Untersuchungen wurden zum Teil aus den Mitteln einer Stiftung bestritten, die mir freundlichst durch Herrn Professor Heubner zugänglich gemacht wurde; dem ungenannten Stifter bin ich zu größtem Danke verpflichtet.)

X. Anhang.

Versuchsprotokolle und Kurven.

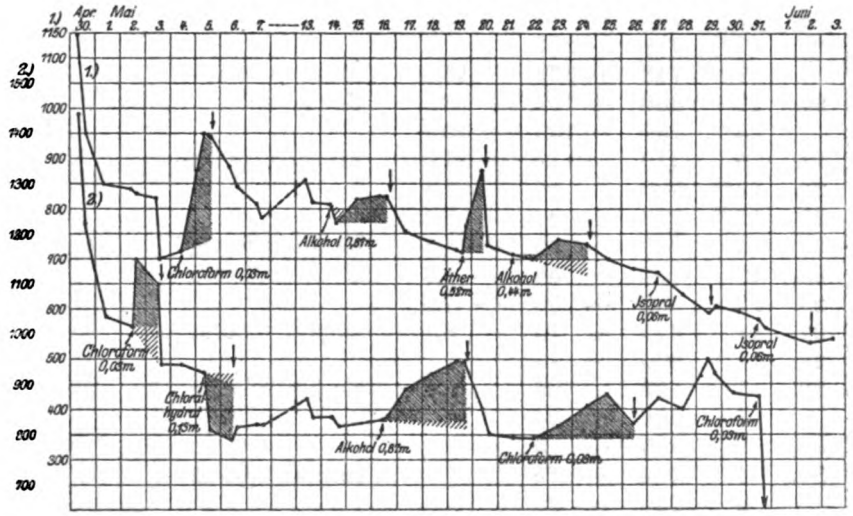


Fig. 8.
Kurve 1: Kephalin a. Kurve 2: Kephalin b.

1. Kephalin a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9^{30}	1150			
	4^{45}	950			
1.	12	850			
2.	12	840			Membran teilweise auf der einen Seite herausgeschwommen
	4^{15}	830			
3.	11^{30}	823			Weiter herausgeschwommen
	4^{30}	700			
4.	12	715			Chloroform 0,03 m
5.	10^{30}	950	+ 235	+ 33,1	
	4^{30}	944			Kochsalzlösung
6.	12^{h}	885			
	5	845			
7.	12	813			
	6	783	— 167	— 21,4	
13.	5^{h}	815			
14.	11^{30}	810			Alkohol 0,87 m
	6	773	— 37	— 4,7	
15.	5	820	+ 47	+ 5,1	
16.	10	825	+ 52	+ 6,7	
	5	825	+ 52	+ 6,7	Kochsalzlösung
17.	11	755	— 70	— 9,2	
18.	12	736	— 89	— 12,0	
19.	12	718	— 107		
	7	713	— 112	— 16,0	Äther 0,52 m
20.	12	880	+ 167	+ 23,5	Kochsalz
	5^{30}	730	— 150	— 20,6	
21.	5	710	— 170	— 24,0	Alkohol 0,44 m
22.	12^{30}	700	— 10	— 1,4	
23.	12^{30}	738	+ 38	+ 5,4	
24.	5	730	+ 30	+ 4,3	Kochsalzlösung
25.	12	700	— 30	— 4,3	Kochsalzlösung
26.	12	680	— 50	— 7,3	
27.	11	675	— 55	— 8,1	Isopral 0,06 m
28.	11^{30}	630	— 45		
29.	1	592	— 83		Kochsalzlösung
	5	606	+ 14		
30.	7	595	+ 3		
31.	1	580	— 15		Isopral 0,06 m
	5	560	— 20		
2.	6	530	— 50		
3.	12	540	+ 10		

2. Kephalin b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9^{30}	1440			
	4^{45}	1220			
1.	12	1035			
2.	12	1015			Membran zum Teil herausgeschwommen. Chloroform 0,03 m
	4^{15}	1150	+ 135	+ 13,3	
3.	11^{30}	1100	(+ 75	+ 7,5)	Kochsalzlösung
	4^{30}	940	— 160	— 17,0	
4.	12	940			
5.	10^{30}	923			Chloralhydrat 0,13 m
	4^{30}	810	— 113	— 14,0	
6.	12	790	— 133	— 14,6	Kochsalzlösung
	5	815	+ 25		
7.	12	820	+ 30	+ 3,6	
	5	820	+ 30	+ 3,6	
13.	5^{h}	835			
14.	11^{30}	835			
	6	815			
16.	10	830			Alkohol 0,87 m
	5	835	+ 5		
17.	11	890	+ 60	+ 7,2	
18.	12	920	+ 90	+ 10,9	
19.	12	945	+ 115	+ 14,0	
	7	945	+ 115	+ 14,0	Kochsalzlösung
20.	12	850	— 95		Kochsalzlösung
	5^{30}	800			
21.	5	793	— 152	— 19,2	
22.	12^{30}	793	— 152	— 19,2	Chloroform 0,03 m
23.	12^{30}	815			
24.	5	855			
25.	12	878	+ 85	+ 10,8	
26.	12	870			Kochsalzlösung
27.	11	870			
28.	11^{30}	850			
29.	1	950			
	5	920			
30.	7	880			
31.	1	875			Chloroform 0,03 m
	7	620			
2.	6	620			Kochsalzlösung
3.	12	672			

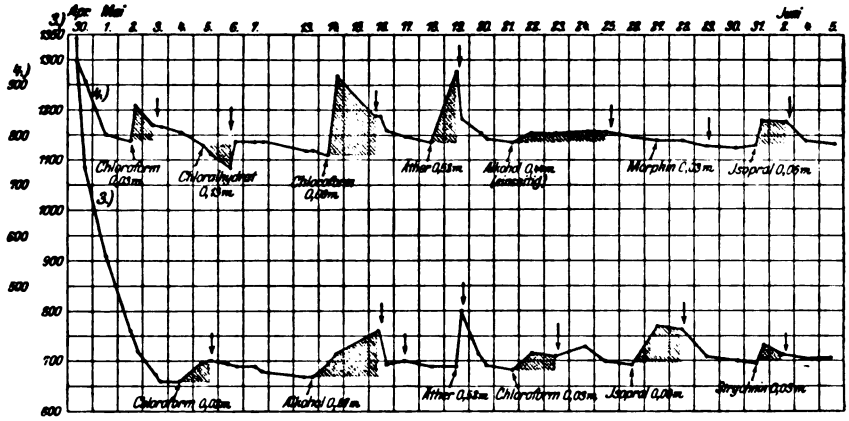


Fig. 9.
Kurve 3: Cholesterin a. Kurve 4: Cholesterin b.

3. Cholesterin a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9^{30}	1345			
	4^{45}	1085			
1.	12	910			
2.	12	760			
	4	722			
3.	11	676			
	4	660			
4.	12	660			Chloroform 0,03 m
5.	10	698			
	4	700	+ 40	+ 6,1	Kochsalzlösung
6.	12	697			
	5	693			
7.	12	690			
	5	680	— 20	— 3,0	
13.	11	667			
	5	670			Alkohol 0,87 m
14.	11	695			
	6	716			
16.	10	758	+ 88	+ 11,6	Kochsalzlösung
	5	697			
17.	11	702			Kochsalzlösung
18.	12	690	— 68	— 9,0	
19.	12	690	— 68	— 9,0	Äther 0,52 m
	7	800	+ 110	+ 16,0	Kochsalzlösung
20.	12	715			
	5	693	— 107	— 15,5	
21.	5	687	— 113		Chloroform 0,03 m

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
22.	12	715	+ 28	+ 4,0	
23.	12	708	+ 21		Kochsalzlösung
24.	5	730			
25.	12	700			
26.	12	695	— 20	+ 3,3	Isopral 0,06 m
27.	11	770	+ 75	+ 10,0	
28.	11	765	+ 70	+ 9,0	Kochsalzlösung
29.	1	710			
30.	7	703	— 62	— 9,0	
31.	1	697			Strychninnitrat 0,03 m
	7	730	+ 33	+ 4,7	
2.	6	710			Kochsalzlösung
3.	12	703	— 17	— 2,4	
	6	704			
13.	12	700			

4. Cholesterin b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	950			
	5	910			
1.	12	800			
2.	12	790			Chloroform 0,03 m
	4	860	+ 70	+ 8,9	
3.	11	820			Kochsalzlösung
	4	820			
4.	12	808	— 52	— 6,5	
5.	10	780			Chloralhydrat 0,25 m
	4	765			
6.	12	737	— 43	— 5,5	Kochsalzlösung
	5	790	+ 53	+ 6,8	
7.	12	790			
	5	788			
13.	11	768			
	5	772			
14.	11	762			Chloroform 0,06 m
	6	920	+ 158	+ 20,8	
16.	10	840			Kochsalzlösung
	5	810			Kochsalzlösung
17.	11	800	— 120	— 15,0	
18.	12	788			Äther 0,52 m
19.	12	932	+ 144	+ 18,2	Kochsalzlösung
	7	830			
20.	12	804	— 128	— 16,0	
	5	795			

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
21.	5	788			Alkohol 0,22 m (einseitig)
22.	12	805			
23.	12	805			
24.	5	810	+ 22	+ 2,7	
25.	12	807			Kochsalzlösung
26.	12	798			
27.	11	790	— 17	— 2,2	Morphinchlorhydrat 0,03 m
28.	11	790		0	
29.	1	780		0	Kochsalzlösung
30.	7	775			
31.	1	780			Isopral 0,06 m
	7	830	+ 50	+ 6,4	
2.	6	830	+ 50	+ 6,4	Kochsalzlösung
4.	12	790	— 40	— 5,0	
5.	6	785			
13.	12	787			

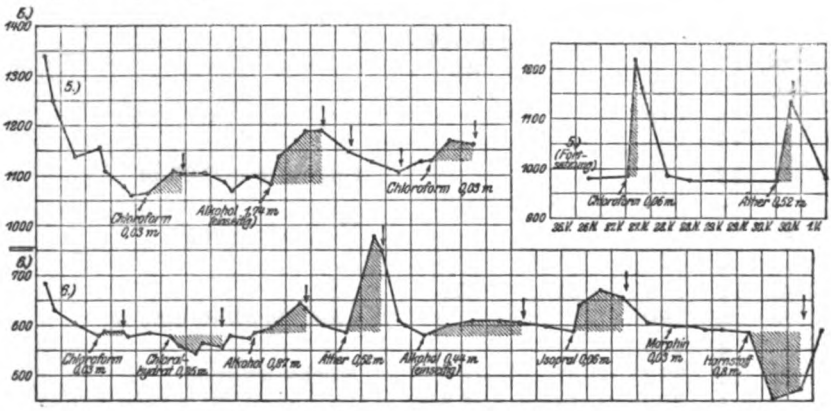


Fig. 10.
Kurve 5: Phrenosin a. Kurve 6: Phrenosin b.

5. Phrenosin a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	10	1340			
	7	1250			
1.	12	1145			
2.	12	1154			
	4	1110			
3.	12	1080			
	4	1060			
4.	12	1065			Chloroform 0,03 m

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
5.	10	1110	+ 45	+ 4,2	
	4	1103			Kochsalzlösung
6.	12	1270			
	5	1110			
7.	12	1090			
	5	1070	— 40	— 3,7	
13.	11	1095			
	5	1100			
14.	11	1085			Alkohol 0,74 m (einseitig)
	6	1138			
16.	10	1170			
	5	1190	+ 105	+ 9,7	
17.	11	1190			Kochsalzlösung
18.	12	1155			Kochsalzlösung
19.	12	1130			
20.	12	1110	— 80	— 7,5	Kochsalzlösung
21.	5	1130			Chloroform 0,03 m
22.	12	1173	+ 43	+ 4,0	
23.	12	1165			Kochsalzlösung
24.	5	1170			
25.	12	1155			
26.	12	1200	± ?		
27.	11	1140	— 33	— 3,0	
28.	12	1140			Morphinchlorhydrat 0,03 m
29.	1	1175			
	5	1180	+ 40	+ 3,5	
30.	7	1180			Kochsalzlösung
31.	7	1175			
2.	6	1130	— 50	— 4,4	
3.	12	1170			
5.	6	1180			

23. Das U-Röhrchen wird zerlegt und die Gummischeibe nach Entfernung der beiden Filtrierpapierscheiben besichtigt. Dabei findet sich die Membran vollkommen intakt, allein eine Druckmarke der Mündungen beider Hälften des horizontalen U-Rohrschenkels derart auf dem Gummiring selbst, daß die Membran wohl ganz aus der Strombahn ausgeschaltet war. Die Gummischeibe mit der Membran wird nun wieder gut zentriert zwischen Filtrierpapier und den U-Rohrhälften fixiert und die Messung fortgesetzt.

26.	7^h	985			
27.	1^h	990			Chloroform 0,06 m
	4	1220	+ 230	+ 23,2	Kochsalzlösung
	4^{30}	1160			

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
28.	10	990			Kochsalzlösung
	8 p. m.	980	— 240	— 24,2	
30.	12	980			Äther 0,52 m
	7	1130	+ 150	+ 15,3	Kochsalzlösung
1.	1	980	— 150	— 15,3	

6. Phrenosin b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	10	685			
	7	630			
1.	12	605			
2.	12	580			Chloroform 0,03 m
	4	590	+ 10	+ 1,7	
3.	11	590			Kochsalzlösung
	4	584			
4.	12	588			
5.	10	580	— 10	— 1,7	Chloralhydrat 0,25 m
	4	563			
6.	12	547	— 33	— 5,7	
	5	565			
7.	12	558			Kochsalzlösung
	5	578	+ 31	+ 5,3	
13.	11	575			
	5	586			Alkohol 0,87 m
14.	11	598			
	6	604			
16.	10	645	+ 59	+ 10,0	
	5	634			Kochsalzlösung
17.	11	598			
18.	12	585	— 60	— 10,2	Äther 0,52 m
19.	12	780	+ 195	+ 33,8	
	7	750			Kochsalzlösung
20.	12	610			
	5	600			
21.	5	580	— 200	— 34,5	Alkohol 0,44 m (einseitig)
22.	12	600			
23.	12	610	+ 30	+ 5,2	
24.	5	610			
25.	12	608			Kochsalzlösung
26.	16	600			
27.	11	590	— 20	— 3,4	Isopral 0,06 m
	1	640			
28.	12	670	+ 80	+ 13,6	

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
29.	1	650			Kochsalzlösung
	5	605			
30.	5	600	— 70	— 11,7	Morphinchlorhydrat 0,03 m
31.	1	597			
	7	590			
2.	6	590			Kochsalzlösung
4.	12	586			Harnstoff 0,8 m
5.	6	452	— 134	— 23,0	
13.	12	470			Kochsalzlösung
19.	12	588	+ 132	+ 22,4	

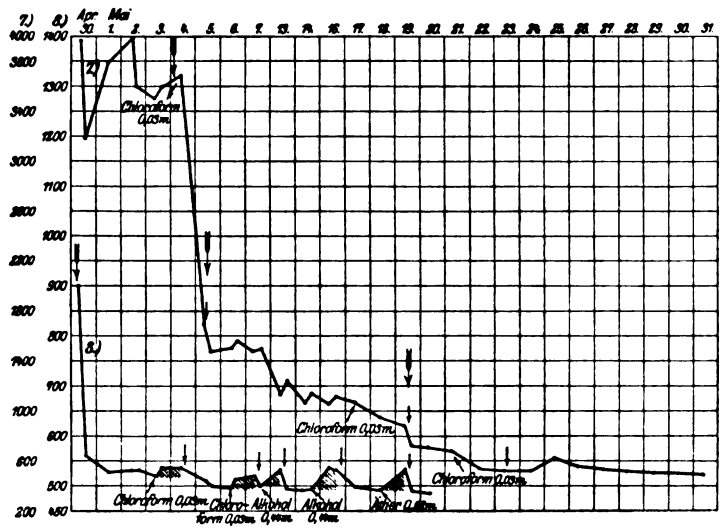


Fig. 11.

Kurve 7: Lecithin a. Kurve 8: Lecithin b.

7. Lecithin a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	2870			
	5	3190			
1.	12	ca. 3800			
2.	12	„ 4000			
	4	„ 3600			
3.	11	„ 3500			
	4	„ 3600			
4.	12	„ 3700			Chloroform 0,03 m

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
5.	10	ca. 1700			Kochsalzlösung. Membran zum Teil herausgequollen.
	4	1470	— 230	— 15,6	
6.	12	1500			
	5	1560			
7.	12	1480			
	5	1500			
13.	11	1133	— 367	— 32,5	Membran größtenteils herausgeschwommen. Kochsalzlösung
	5	1250			
14.	11	1060			
	6	1140			
16.	10	1055			
	5	1120			
17.	11	1073			Chloroform 0,03 m
18.	12	950			
19.	12	880			Kochsalzlösung. Großer Teil herausgeschwommen.
	7	735	— 145	— 19,6	
20.	12	712			
21.	5	685			Chloroform 0,03 m
22.	12	540			
23.	12	520			Kochsalzlösung
24.	5	520			
25.	12	615			
26.	12	566			
27.	11	532			
28.	11	510			
29.	1	500			
30.	7	493			
31.	1	484			

8. Lecithin b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	900			Großer Teil bereits herausgeschwommen. Kochsalzlösung
	5	560			
1.	12	530			

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
2.	12	530			
	4	530			
3.	11	518			Chloroform 0,03 m
	4	526	+ 6	+ 1,1	
4.	12	524			Kochsalzlösung. Membran vollkommen wasserdurchgängig
5.	10	510	— 14	— 2,7	
	4	500			
6.	12	495			Chloroform 0,03 m
	5	513	+ 18		
7.	12	520	+ 25	+ 5,0	Kochsalzlösung
	5	500	— 20	— 4,0	
13.	11	535			Kochsalzlösung
	5	494			
14.	11	493			
	6	492			Alkohol 0,87 m
16.	11	538	+ 46	+ 8,5	
	5	533			Kochsalzlösung
17.	11	498			
18.	12	490	— 48	— 9,8	Äther 0,52 m
19.	12	535	+ 45	+ 9,2	Kochsalzlösung
	7	490	— 45	— 9,2	
20.	12	487			

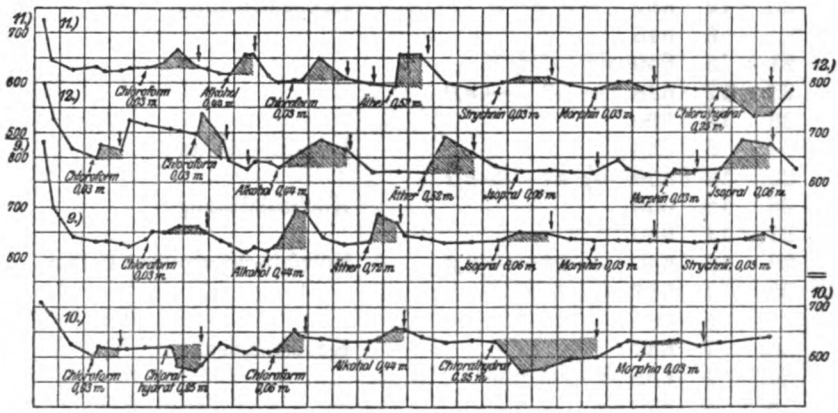


Fig. 12.

Kurve 9: Tristearin a. Kurve 11: Ricinolsaures Natrium a.
Kurve 10: Tristearin b. Kurve 12: Ricinolsaures Natrium b.

9. Tristearin a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	830			
	5	700			
1.	12	640			
2.	12	627			
	4	630			
3.	11	626			
	4	622			
4.	12	640			Chloroform 0,03 m
5.	10	650	+ 10		
	4	660	+ 20	+ 3,3	
6.	12	660			
	5	650			Kochsalzlösung
7.	12	635	— 25	— 3,9	
	5	628	— 32	— 5,0	
13.	11	610			
	6	620			
14.	11	613			Alkohol 0,87 m
	6	625			
16.	10	693	+ 80	+ 13,0	
	5	690			Kochsalzlösung
17.	11	640			
18.	12	628	— 62	— 10,0	
19.	12	632			Äther 0,52 m
	7	685	+ 53	+ 8,4	
20.	12	667			Kochsalzlösung
	5	645			
21.	5	640			
22.	12	628	— 57	— 9,0	
23.	12	630			
24.	5	633			Isopral 0,06 m
25.	12	650	+ 17	+ 2,7	
26.	12	650			Kochsalzlösung
27.	11	640			
28.	12	636	— 14	— 2,2	Morphinchlorhydrat 0,03 m
29.	1	637			
	5	635			
30.	7	637			Kochsalzlösung
31.	1	635			
3.	6	630			
4.	12	633			Strychninnitrat 0,03 m
5.	6	640			
13.	12	650	+ 17	+ 2,7	Kochsalzlösung
19.	12	623	— 27	— 4,3	

10. Tristearin b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	710			
	5	690			
1.	12	625			
2.	12	600			Chloroform 0,03 m
	4	620	+ 20	+ 3,3	
3.	11	617			Kochsalzlösung
	4	614	— 6	— 1,0	
4.	12	618			
5.	10	620			Chloralhydrat 0,25 m
	4	578	— 42	— 6,8	
6.	12	573	— 47	— 7,6	
	5	575			Kochsalzlösung
7.	12	630	+ 55	+ 8,7	
	5	620			
13.	11	610			
	5	613			
14.	11	612			
	6	610			Chloroform 0,06 m
16.	10	655	+ 45	+ 7,4	
	5	640			Kochsalzlösung
17.	11	638			
18.	12	627	— 28	— 4,4	
19.	12	632			Alkohol 0,44 m
	7	633			
20.	12	663	+ 31	+ 5,0	
	5	663			Kochsalzlösung
21.	5	645			
22.	12	640	— 23	— 3,6	
23.	12	640			
24.	5	640			Chloralhydrat 0,50 m
25.	12	576	— 64	— 10,0	
26.	12	580			
27.	11	600			
28.	12	603	— 37	— 5,8	Kochsalzlösung
29.	1	630			
	5	640	+ 37	+ 5,8	
30.	7	633			Morphinchlorhydrat 0,03 m
31.	1	641	+ 8	+ 1,2	
	5	640			
2.	6	630			Kochsalzlösung
4.	12	637	+ 7	+ 1,1	
5.	6	638			

11. Ricinolsaures Natrium a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	730			
	4	650			
1.	12	630			
2.	12	635			
	4	625			
3.	11	628			
	4	630			
4.	12	630			Chloroform 0,03 m
5.	10	640			
	4	715	+ 85	+ 13,5	Kochsalzlösung
6.	12	630	— 85		Kochsalzlösung
7.	12	622	— 93	— 15,0	
	5	618			Alkohol 0,44 m
13.	11	657			
	5	660	+ 42	+ 6,8	Kochsalzlösung
14.	11	613	— 47	— 7,6	
	6	600			
16.	10	604			Chloroform 0,03 m
	5	603			
17.	11	650	+ 46	+ 7,7	
18.	12	608			Kochsalzlösung
19.	12	600	— 50	— 8,3	Kochsalzlösung
20.	12	595			Äther 0,52 m
	5	660	+ 65	+ 11,0	
21.	5	660	+ 65	+ 11,0	Kochsalzlösung
22.	12	597	— 63	— 10,5	
23.	12	590			
24.	5	600			Strychninnitrat 0,03 m
25.	12	610	+ 10	+ 1,7	
26.	12	610			Kochsalzlösung
27.	11	595	— 15	— 2,5	
28.	11	588			Morphinchlorhydrat 0,03 m
29.	1	598			
	5	595			
30.	7	585			Kochsalzlösung
31.	1	590			
2.	6	586			
4.	12	587			Chloralhydrat 0,25 m
5.	6	530	— 57	— 9,6	
13.	12	533			Kochsalzlösung
19.	12	585	+ 55	+ 9,5	

12. Ricinolsaures Natrium b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	9	800			
	5	730			
1.	12	670			
2.	12	647			Chloroform 0,03 m
	4	675	+ 28	+ 4,3	
3.	11	663			Kochsalzlösung
	4	725			
4.	12	717			
5.	10	708			
	4	703			
6.	12	700			Chloroform 0,03 m
	5	745	+ 45	+ 6,4	
7.	12	685			Membran zum Teil herausgeschwommen. Kochsalzlösung
	4	640	— 45	— 7,0	
13.	11	625			
	5	640			
14.	11	643			
	6	630			Alkohol 0,87 m
16.	10	652			
	5	663			
17.	11	683	+ 53	+ 8,4	
18.	12	667			Kochsalzlösung
19.	12	620	— 63	— 10,2	
20.	12	625			
21.	5	620			Äther 0,52 m
22.	12	697	+ 77	+ 11,0	
23.	12	660			Kochsalzlösung
24.	5	635			
25.	12	622	— 75	— 10,7	Strychninnitrat heiß gesättigt
26.	12	622			Zusatz von āā Kochsalzlösung, da zum Teil umkrystallisiert
27.	11	622			
28.	11	620			Kochsalzlösung
29.	1	650			
	5	630			
30.	7	620			
31.	1	615			Morphinchlorhydrat 0,03 m
	7	627			
2.	6	626			Kochsalzlösung
4.	12	625			Isopral 0,06 m

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
5.	6	690	+ 65	+ 10,5	
13.	12	680			Kochsalzlösung
19.	12	630	— 50	— 8,0	

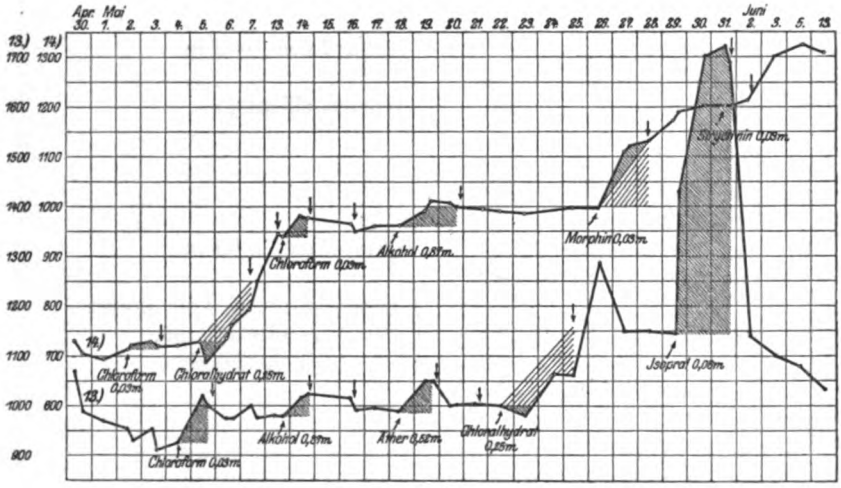


Fig. 13.
Kurve 13: Stearinsaures Natrium a. Kurve 14: Stearinsaures Natrium b.

13. Stearinsaures Natrium a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	10	1070			
	7	990			
1.	12	970			
2.	12	953			
	4	930			
3.	11	953			
	4	910			
4.	12	925			Chloroform 0,03 m
5.	10	1020	+ 95	+ 10,2	
	4	1000			Kochsalzlösung
6.	12	975	— 45	— 4,6	
	5	975			Kochsalzlösung
7.	5	975			
13.	11	980			
	5	980			Alkohol 0,87 m
14.	11	1015			
	6	1020	+ 42	+ 9,3	Kochsalzlösung
16.	11	1015			Kochsalzlösung

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
16.	5	993	— 29	— 3,0	
17.	11	995			
18.	12	998			Äther 0,52 m
19.	12	1050	+ 52	+ 5,2	
	7	1050			Kochsalzlösung
20.	12	1000	— 50	— 5,0	
	5	1000			
21.	5	1005			Kochsalzlösung
22.	12	1000			Chloralhydrat 0,25 m
23.	12	980	— 20	— 2,0	
24.	5	1065			
25.	12	1060	(+ 60)	+ 6,0	Kochsalzlösung
26.	12	1290	+ 230	+ 18,0	
27.	11	1150	(+ 90)	+ 7,9	
28.	12	1150			
29.	1	1145			Isopral 0,06 m
	5	1430			
30.	7	1700			
31.	1	1720	+ 575	+ 50,0	Kochsalzlösung
	7	1690			
2.	6	1140	— 570	— 50,0	
3.	12	1100			
5.	6	1080			
13.	12	1035			

14. Stearinsaures Natrium b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	10	730			
	7	705			
1.	12	695			
2.	12	714			Chloroform 0,03 m
	4	723			
3.	11	727	+ 13	+ 1,08	
	4	720			Kochsalzlösung
4.	12	720	— 7	— 1,0	
5.	10	730			Chloralhydrat 0,25 m
	4	685	— 45	— 6,2	
6.	12	735			
	5	760			
7.	12	793	+ 63	+ 8,6	Kochsalzlösung
	5	850	+ 57	+ 8,0	
13.	11	945			Kochsalzlösung
	5	940			Chloroform 0,03 m
14.	11	980	+ 80	+ 8,5	

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
14.	6	978			Kochsalzlösung
16.	10	965			Kochsalzlösung
	5	952	— 28	— 3,0	
17.	11	960			
18.	12	962			Alkohol 0,87 m
19.	12	990			
	7	1010	+ 48	+ 5,0	
20.	12	1005			
	5	1000			Kochsalzlösung
21.	5	995			
22.	12	990			
23.	12	986	— 14	— 1,4	
25.	12	995			
26.	12	998			Morphinchlorhydrat 0,03 m
27.	11	1110			
	1	1120			
28.	12	1130	+ 32	+ 3,2	Kochsalzlösung
29.	1	1170	+ 40	+ 3,4	
	5	1190			
30.	7	1200			
31.	1	1200			Strychninnitrat 0,03 m
	7	1200			
2.	6	1210	+ 10	+ 0,8	Kochsalzlösung
3.	12	1300	+ 90	+ 7,0	
5.	6	1323			

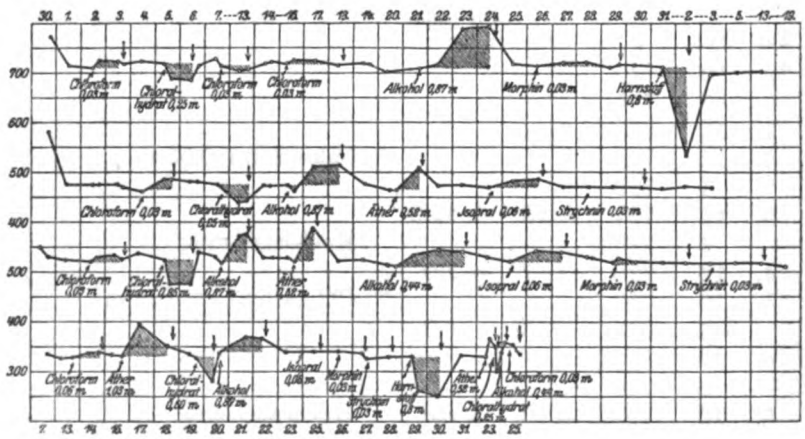


Fig. 14.

Die Kurven stellen von oben nach unten dar:

15.: Gelatine 10% a.
16.: Gelatine 10% b.
17.: Filtrierpapierkontrolle.
18.: Kochsalzkontrolle.

15. Gelatine 10%. a.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	7	775			
1.	12	715			
2.	12	710			Chloroform 0,03 m
	4	726	+ 16	+ 2,2	
3.	12	725			Kochsalzlösung
	4	718	— 8	— 1,1	
4.	12	724			
5.	10	718			Chloralhydrat 0,13 m
	5	690			
6.	12	685	— 33	— 4,6	Kochsalzlösung
	5	715	+ 30	+ 4,2	
7.	12	730			
	5	715			Chloroform 0,03 m
13.	11	705	— 10		
	5	706	— 11	— 1,5	Kochsalzlösung
14.	11	720	+ 14	+ 1,9	
	6	723			
16.	10	720			Chloroform 0,03 m
	5	725	+ 5	+ 0,7	
17.	11	725			
18.	12	714			Kochsalzlösung
19.	12	720			
	7	718			
20.	12	703	— 22	— 3,1	
21.	5	710			Alkohol 0,87
22.	12	716			
23.	12	790			
24.	5	795	+ 85	+ 12,0	Kochsalzlösung
25.	12	720			
26.	12	716	— 79	— 11,0	Morphinchlorhydrat 0,03 m
27.	11	720			
28.	12	722	— 6	+ 0,8	
29.	1	710			
	5	715			Kochsalzlösung
30.	7	714			
31.	1	712	— 10	— 1,4	Harnstoff 0,8 m
2.	6	530	— 182	— 25,6	Kochsalzlösung
3.	12	695	+ 165	+ 23,4	
13.	12	700			

16. Gelatine 10%. b.

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	7	580			
1.	12	475			
2.	12	475			
	4	475			
3.	12	475			
	4	469			
4.	12	460			Chloroform 0,03 m
5.	10	483			
	5	485	+ 25	+ 5,4	Kochsalzlösung
6.	12	480			
	5	480			
7.	12	475			
	5	465	— 20	— 4,3	Chloralhydrat 0,25 m
13.	11	438	— 28	— 5,9	
	5	442			Kochsalzlösung
14.	11	478	+ 40	+ 8,4	
	6	472			
16.	10	475			Alkohol 0,87 m
	5	462			
17.	11	512			
18.	12	515	+ 40	+ 8,4	Kochsalzlösung
19.	12	475			
20.	12	463	— 52	— 11,3	
	5	465			Äther 0,52 m
21.	5	510	+ 45	+ 9,8	Kochsalzlösung
22.	12	473			
23.	12	475			
24.	5	470	— 40	— 8,5	Isopral 0,06 m
25.	12	482			
26.	12	485	+ 15	+ 3,3	Kochsalzlösung
27.	11	470	— 15	— 3,2	
28.	12	470			Strychninnitrat 0,03 m
29.	1	468			
30.	7	469			Kochsalzlösung
31.	1	466			
2.	6	470			
3.	12	467			

17. Filtrierpapier (Kontrolle).

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
30.	10	550			
	7	530			
1.	12	526			
2.	12	523			Chloroform 0,03 m
	4	530			
3.	12	535	+ 12	+ 2,3	
	4	527			m-Kochsalzlösung
4.	12	538			
5.	10	525	— 10	— 1,9	Chloralhydrat 0,50 m
	4	476			
6.	12	475	— 50	— 9,4	Kochsalzlösung
	5	540			
7.	12	530	+ 55	+ 10,4	
	5	520			Alkohol 0,87 m
13.	11	573			
	5	578	+ 58	+ 11,2	Kochsalzlösung
14.	11	530			
	6	528	— 50	— 9,4	
16.	10	530			
	5	523			Äther 0,52 m
17.	11	590	+ 67	+ 12,9	Kochsalzlösung
18.	12	522	— 68	— 13,1	
19.	12	523			
20.	12	517			
	5	514			Alkohol 0,44 m
21.	5	534			
22.	12	544	+ 30	+ 5,9	
23.	12	540			Kochsalzlösung
24.	5	530			
25.	12	522	— 22	— 4,3	Isopral 0,06 m
26.	12	543	+ 21	+ 4,0	
27.	11	540			Kochsalzlösung
28.	12	532			
29.	1	518	— 25	— 4,8	Morphinchlorhydrat 0,03 m
	5	525	+ 7	+ 1,3	
30.	7	520			
31.	1	518			
2.	6	517			Kochsalzlösung
3.	12	517	— 8	— 1,5	Strychninnitrat 0,03 m
5.	6	516			
13.	12	515			Kochsalzlösung.
19.	12	510			
20.	12	510			

18. m-Kochsalzlösung (Kontrolle).

Tag	Std.	W	ΔW	$\frac{\Delta W \cdot 100}{W_0}$	
7.	5	333			
13.	11	327			
	5	327			Chloroform 0,06 m
14.	11	337			
	6	340	+ 13	+ 3,9	m-Kochsalzlösung
16.	10	333			
	5	330	— 10	— 3,0	Äther 1,03 m
17.	11	395	+ 65	+ 19,7	Äther 1,03 m
18.	12	350			m-Kochsalzlösung
19.	12	335	— 60	— 17,7	
	7	328			Chloralhydrat 0,5 m
20.	12	280	— 48	— 14,5	m-Kochsalzlösung
	5	337	+ 57	+ 16,8	Alkohol 0,87 m
21.	5	370	+ 33	+ 10,0	
22.	12	366			m-Kochsalzlösung
23.	12	340	— 30	— 8,8	Isopral 0,06 m
25.	12	340	0		m-Kochsalzlösung
26.	12	340			Morphinchlorhydrat 0,03 m
27.	11	336	— 4	— 1,4	m-Kochsalzlösung
	1	328	— 8	— 2,8	Strychninnitrat 0,03 m
28.	12	328			m-Kochsalzlösung
29.	1	330			Harnstoff 0,8 m
	5	260	— 70		
30.	7	248	— 82	— 24,8	m-Kochsalzlösung
31.	1	333	+ 85	+ 25,8	
23.	11	330			Äther 0,52 m
	1	370	+ 30	+ 9,0	
	4	350			Kochsalzlösung. Chloralhydrat 0,25 m
	5	300	— 32	— 9,7	Kochsalzlösung; dann Alkohol 0,44 m
	6	340			
25.	12	360	+ 28	+ 8,4	Kochsalzlösung. Chloroform 0,03 m
27.	4	335	+ 2	+ 0,6	Kochsalzlösung
	5	333	— 2	— 0,6	

Über aromatische Quecksilberverbindungen. III.

Von

Ferdinand Blumenthal und Kurt Oppenheim.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Eingegangen am 14. Oktober 1913.)

Obwohl es eine Quecksilbertherapie bereits seit mehreren Jahrhunderten gibt, und obwohl in den letzten Jahrzehnten wissenschaftliche Untersuchungen über die Wirkung des Quecksilbers bei der menschlichen Syphilis in großer Zahl angestellt sind, hat man im allgemeinen dennoch auf die chemische Konstitution der Quecksilberverbindungen bei der Therapie kein besonderes Gewicht gelegt. Wie gering diese Frage bei den Quecksilberverbindungen angesehen wurde, mag man am besten daraus ersehen, daß, obwohl Dimroth bereits im Jahre 1901 festgestellt hat, daß das Salicylquecksilber nicht das Hg-Salz der Salicylsäure, sondern eine aromatische Quecksilberverbindung ist, dieser Befund von den Dermatologen, ja sogar von den meisten Pharmakologen vollständig ignoriert worden ist. So finden wir weder in dem ausgezeichneten Lehrbuch von Hans Meyer und Gottlieb eine diesbezügliche Notiz beim Hydrargyrum salicylicum, noch in der von Ewald und Hefter herausgegebenen Arznei-Verordnungslehre, noch in einigen anderen daraufhin von mir nachgesehenen Lehr- und Handbüchern. Es blieb daher bei der alten Annahme, daß das Quecksilber nur dann wirksam sei, wenn es als Ion in den Organismus eingeführt wird. So sehen wir denn, daß die einzelnen Dermatologen zwar dem einen oder dem anderen Quecksilbersalz einen Vorzug geben, wobei aber mehr die Frage, ob gelöste oder ungelöste Quecksilberpräparate in den mensch-

lichen Organismus eingeführt werden sollen, eine Rolle spielt, als die Frage der Konstitution, selbst der Art der Bindung des Quecksilbers. Ferner bildet der Quecksilbergehalt bei einzelnen Präparaten einen Maßstab für die Beurteilung insofern, als es für einen Vorteil angesehen wird, wenn möglichst geringe Quecksilbermengen für therapeutische Erfolge genügen. So wird bei den einzelnen Präparaten gewöhnlich hervorgehoben, daß es gelingt, mit nur so und soviel Gramm Hg die Symptome zum Verschwinden zu bringen, oder die Wassermannsche Reaktion negativ zu machen, während bei den Arsenikalien eine solche Berechnung nicht statthat. So hat denn bis heute nicht ein bestimmtes Quecksilberpräparat bei der Behandlung der Syphilis die anderen verdrängt, wie beim Arsen das Salvarsan, sondern je nach der Verträglichkeit, Schmerzhaftigkeit, Löslichkeit finden die einzelnen Quecksilberpräparate ihre Vertreter, und kaum ein Syphilidologe beschränkt sich auf ein einziges Präparat, dem er den Vorzug vor den anderen gibt, sondern er wendet in diesem Falle das eine, in jenem ein anderes an, hat also immer 3 oder 4 Verbindungen zur Verfügung, unter denen er je nach Bedarf wechselt. Nur in dem einen Punkt dürften alle Dermatologen einig sein, nämlich darin, daß die am stärksten wirksamen Quecksilberverbindungen das Kalomel und das graue Öl sind, also zwei unlösliche Quecksilberpräparate. Aber ebenso wie die Wirkungen ausschließlich dem ionisierten Quecksilber zugeschrieben wurden, ebenso ist die Ansicht allgemein verbreitet, daß das Quecksilberion die Quecksilbervergiftung hervorruft, und daß wir hauptsächlich deshalb in dem Kalomel ein so giftiges Quecksilberpräparat vor uns hätten, weil wir mit ihm auf einmal die größte Menge Quecksilber, nämlich 85%, injizieren, d. h. mit 0,1 g Kalomel 0,085 g Hg. Von den übrigen ionisierten Quecksilberpräparaten sind im allgemeinen die löslichen giftiger als die unlöslichen. Dies wurde bisher so erklärt, daß bei den löslichen die eingeführte Quecksilbermenge auf einmal zur Wirkung kommt, nach Einführung der unlöslichen dagegen an der Injektionsstelle ein Depot geschaffen wird, von dem aus allmählich das Hg in die Zirkulation resorbiert wird. Man stellte sich dabei die Wirksamkeit so vor, daß es im Tierkörper mit Chlor und Eiweiß in chlorierte Albuminate übergeführt wird.

Während also, wie gesagt, im allgemeinen von einer systematischen Erforschung der Bedeutung der Konstitution der Quecksilberpräparate für die Wirkung im Organismus früher keine Rede war, ist es begreiflich, daß derartige Forschungen, nachdem sie sich bei den Schlafmitteln und bei den aromatischen Arsenikalien so außerordentlich bewährt hatten, bei der Quecksilbertherapie nicht auf die Dauer vernachlässigt werden konnten. Es ist klar, daß die Erkenntnis, die wir bei den aromatischen Arsenikalien gesammelt haben, notwendigerweise die Aufmerksamkeit der Forscher auf die aromatischen Quecksilberverbindungen lenken mußte, d. h. auf die Verbindungen, in denen Hg an einen Kohlenstoff des Benzolrings gebunden ist. Ich erwähne hier nur Schrauth und Schoeller, Kolle mit Dahle, Rothermundt und Abelin. Schrauth und Schoeller haben die Gesichtspunkte, die für viele, aber nicht für alle Syphilidologen für die Quecksilberbehandlung von Bedeutung sind, zusammengefaßt und gelangten als erste zur prinzipiellen Empfehlung aromatischer Quecksilberpräparate. Sie schreiben[1]): „Wenn sich die synthetische Chemie nunmehr die Aufgabe stellte, Verbindungen darzustellen, welche die schwer in eins zu vereinbarenden oben genannten Forderungen (d. h. schnelle und leichte Löslichkeit, Haltbarkeit der erhaltenen Lösungen, die ihrerseits Metallinstrumente nicht amalgamieren, Eiweiß nicht fällen und reizlos injizierbar sein sollen, Auslösung der bekannten Giftwirkung des Quecksilbers im Organismus, aber in gemilderter Form) erfüllen sollten, so konnte kein Zweifel bestehen, daß die für die Lösung des Problems geeigneten Substanzen nur im Bereich des nicht ionisierbaren Quecksilbers zu suchen waren, und daß hier wiederum die Quecksilber-Kohlenstoffverbindung die größten Aussichten bot. Denn organische Reste, die das Metall gebunden enthalten, lassen sich durch Einführung mannigfaltiger Gruppen löslich machen, entgiften und überhaupt in der verschiedensten Weise modifizieren, so daß der Synthese hier die größte Möglichkeit gegeben ist, durch Veränderung des Moleküls etwaige Mängel zu beseitigen.“ Anschließend führten sie sodann aus, daß die physiologisch günstigsten Bedingungen gegeben sind,

[1]) Diese Zeitschr. 32.

wenn das Quecksilber in der Phenylgruppe aromatischer Substanzen gebunden ist.

Wir haben nun in folgendem sowohl toxikologische wie therapeutische Versuche bei den verschiedenartigsten Hg-Präparaten angestellt und dabei zwei Gruppen untersucht: 1. aromatische Hg-Verbindungen, 2. Quecksilbersalze.

Bei den aromatischen Hg-Verbindungen haben wir zu unterscheiden solche, in denen Hg mit einer Valenz an ein C des Benzolrings gebunden ist, und solche, in denen beide Valenzen derart gesättigt sind. Zuerst haben wir Quecksilberverbindungen untersucht, in denen Hg mit beiden Valenzen gesättigt war, so daß also zwei Benzolringe durch ein Quecksilber verbunden wurden. In diesen Verbindungen ist das Quecksilber vollständig maskiert, sie reagieren nicht mit H_2S bzw. Schwefelammonium, weder in der Wärme noch in der Kälte, wenn sie nicht vorher ganz aufgespalten sind. Solche Verbindungen wurden von Herrn Dr. Lüdecke im Laboratorium der Vereinigten chemischen Werke in Charlottenburg dargestellt. Sie wurden zuerst an Tieren (Kaninchen und Ratten) auf ihre Giftigkeit und ihre Verteilung im Tierkörper geprüft und dann bei der Hühnerspirillose und speziell bei der Kaninchensyphilis auf ihre Wirksamkeit erprobt[1]).

Die erste Verbindung, die wir genauer untersuchten, war das diaminomercuridiphenyldicarbonsaure Natrium. Es war beim Kaninchen und bei der Ratte von einer sehr geringen Giftigkeit. So vertrug ein Kaninchen von ca. $2^1/_2$ kg bis 1 g, ohne besondere Krankheitserscheinungen zu zeigen, eine Ratte bis 0,2 g. Da das Präparat $38\,^0/_0$ Hg enthält, so konnten wir mit dieser Verbindung bei einem Kaninchen von 2 bis $2^1/_2$ kg 0,38 g Hg in den Organismus hineinbringen, ohne daß besondere Krankheitserscheinungen auftraten, während die höchste Dosis Sublimat, die noch vertragen wurde, 0,02 g war. Mit dieser Dosis Sublimat führt man 0,0148 g Hg dem Körper zu. Es zeigte sich ferner, daß die Verbindung im Reagensglas auf Fäulnisbakterien und auf die Milchgärung keinen wesentlichen

[1]) Diese Zeitschr. **82**, **85**, **89**, und Franz Blumenthal, Med. Klin. **1911**.

Einfluß ausübt. Zwar gerinnt die Milch nicht, aber es sind Bakterien in ihr nachzuweisen, und die Fäulnis wird nicht absolut gehemmt, sondern nur verlangsamt. Was nun die Versuche gegenüber den Spirochäten[1]) anbelangt, so ließ sich zwar eine ausgesprochene spirillocide Wirkung gegenüber Kaninchensyphilis nachweisen, doch mußten die Einspritzungen sehr oft wiederholt werden, und man mußte so große Dosen geben, daß man fast bis an die tödliche herangehen mußte, um ein Ergebnis zu erzielen.

Fast ebenso ungiftig erwies sich ein analoges Präparat, das dinitromercuridiphenyldicarbonsaure Natrium. Dieses hat einen Quecksilbergehalt von 34,7%. Es konnten davon einem Kaninchen von 3 kg innerhalb von 5 Tagen 3 mal 0,5 g subcutan injiziert werden, ohne daß das Kaninchen die geringsten Krankheitserscheinungen zeigte. Dagegen war es für Ratten etwas giftiger als das Diaminoprodukt. Man konnte nur bis 0,1 g einer Ratte von 60 bis 70 g einspritzen. Etwas giftiger, da hier schon die tödliche Dosis bei 0,1 g liegt, ist das dioxymercuridiphenyldicarbonsaure Natrium, das 38,6% Hg enthält. Es hat sich also bei diesen drei Verbindungen ergeben, daß bei sonst gleicher Bindungsart des Quecksilbers und auch bei annähernd gleichem Gehalt an Quecksilber — 34 bis 38% — die Giftigkeit immerhin nicht unerheblich variiert, indem das Diaminoprodukt bei weitem am wenigsten giftig, das Dioxyprodukt anscheinend am giftigsten ist.

Die zweite Gruppe aromatischer Hg-Verbindungen wird durch die halbmaskierten repräsentiert, d. h. durch die Verbindungen, in denen das Hg nur mit einer Valenz an den aromatischen Kern gebunden ist. Der bekannteste Repräsentant dieser Gruppe ist das Salicylquecksilber, in der Pharmakopöe fälschlich als Quecksilbersalz der Salicylsäure bezeichnet, aber von Dimroth als aromatische Verbindung erkannt. Dieses Salicylquecksilber wird meist in öliger Suspension angewandt, obwohl es in starker Verdünnung in Kochsalz und leichter in Alkalien löslich ist. Diese Lösungen haben

[1]) Diese Versuche hat Franz Blumenthal auf der Klinik für Hautkrankheiten in der Königl. Charité ausgeführt.

vermutlich wegen der großen Flüssigkeitsmenge und Schmerzhaftigkeit bei der Injektion wenig Anwendung beim Menschen gefunden. Das Salicylquecksilber ist nach unseren Erfahrungen beim Kaninchen relativ giftig; 0,1 g tötet ein Kaninchen von $2^1/_2$ kg. Man kann kaum mehr als 0,05 g Hg einem solchen Kaninchen, ohne daß es schwer krank wird, einverleiben. Immerhin ist das noch ca. das 3fache an Hg, was man mit dem Sublimat (Quecksilberbichlorid) dem Kaninchen injizieren kann.

Das Salicylquecksilber ist ein mildes, wenn auch nicht sehr stark wirkendes Quecksilberpräparat. Man ist daher frühzeitig bestrebt gewesen, es in eine lösliche Form überzuführen, die für die Praxis brauchbar ist. Zuerst ist dies geschehen von Clin im Enésol, wobei es mit Arsen kombiniert wurde. Dies geschah einerseits in der Erkenntnis, daß Arsen auf gewisse Formen der Syphilis (Ulcera) günstig wirkt (Carl Rosenthal, Darrier, Brocq), andererseits um die roborierende Wirkung des Arsens gegenüber der anämisierenden der Syphilis und des Quecksilbers zu benutzen. Im Enésol handelt es sich um einen sauren Salicylester der Arsensäure, in dem die drei Hydroxylgruppen durch Quecksilber ersetzt sind. Der Quecksilbergehalt dieses Präparates ist 38,46 %. Nach unseren Versuchen ist dieses Präparat weniger giftig als das Salicylquecksilber, auch wenn man den geringeren Quecksilbergehalt in Betracht zieht. Vielleicht ist hierfür die Festigkeit der Bindung des Quecksilbers am C-Atom von Bedeutung, worauf zuerst Schrauth und Schoeller aufmerksam gemacht haben. Sie haben als Maßstab für die Stärke der Bindung des Hg an den Kohlenstoff das Verhältnis zum Schwefelwasserstoff angegeben, indem bei schwächerer Bindung das Präparat mit Schwefelwasserstoff schneller als bei fester reagiert. Danach läge im Enésol eine verhältnismäßig feste Bindung des Quecksilbers vor. Andere löslich gemachte Salicylquecksilberverbindungen liegen im Asurol (Schrauth und Schoeller) und Embarin (Chem. Fabrik Heyden) vor.

Asurol ist das Doppelsalz des oxyquecksilbersalicylsauren Natriums mit monooxyisobuttersaurem Natrium und hat einen Hg-Gehalt von 40,39 %. Etwas später als das Asurol wurde die Sulfoverbindung der Quecksilbersalicylsäure, die ebenfalls erheblich leichter löslich ist als das Salicylquecksilber unter

dem Namen Embarin hergestellt[1]). Nun kann man aber auch das Salicylquecksilber selbst leicht lösen, ohne komplizierte Eingriffe vorzunehmen. Als Lösungsmittel haben wir das Diäthylendiamin erkannt[2]). Es ist uns gelungen, das Salicylquecksilber am besten in 8%iger Diäthylendiaminlösung aufzulösen und so ein für die Injektion brauchbares Salicylquecksilber bei unseren Versuchen zur Anwendung zu bringen.

A. Versuche mit Quecksilbersalicyl.

(Hydrargyrum salicylicum der Pharmakopöe.)

Salicylquecksilber ist in 1%iger Kochsalzlösung schwer löslich, leichter unter Zusatz einiger Tropfen 1%iger Sodalösung. Das aus der Apotheke bezogene Präparat reagiert mit Schwefelammonium in der Kälte langsam, erhitzt sofort.

Versuche an Ratten.

Versuch 1.

Eine große Ratte erhält am 24. V. 1911 0,03 g in 3 ccm Öl subcutan. Am nächsten Tage ist das Tier tot.

Versuch 2.

Am 27. V. werden 0,1 g in 15 ccm einer 1%igen Kochsalzlösung unter Zusatz von ein paar Tropfen Sodalösung in der Hitze gelöst, 1 ccm = 0,007 g. 0,5 ccm (0,0035 g) dieser Lösung werden einer größeren Ratte, 1 ccm (0,0070 g) einer kleineren Ratte eingespritzt. Am 25. V. sind beide Tiere tot.

Versuch 3.

Am 29. V. wird eine Lösung von 0,1 g in 50 ccm 1%iger Kochsalzlösung hergestellt. Davon erhalten 2 Ratten 1½ mg und 1 mg.

Am 30. und 31. V. leben beiden Tiere. Am 1. VI. ist das 2-mg-Tier tot, das 1-mg-Tier lebt am 12. VI. noch.

Versuch 4.

Am 1. VI. 1911 erhalten 2 Ratten 1½ resp. 2 ccm der Lösung, 0,1 g in 50 ccm 1%iger Kochsalzlösung = 2 mg und 4 mg. Beide Tiere sind nach einigen Tagen gestorben.

---

[1]) Als Embarin wird eine Lösung von mercurisalicylsulfosaurem Natrium mit einem Zusatz von ½% Akoin bezeichnet, die 3% Quecksilber enthält.

[2]) Diäthylendiamin, auch Piperazin genannt, wurde zuerst von E. Salkowski als Lösungsmittel zahlreicher Körper, insbesondere von Xanthinkörpern benutzt, um sie gelöst in den Organismus einzuführen. Arch. f. d. ges. Physiol. 56, 349.

Die unschädliche Dosis für eine Ratte von ca. 70 bis 80 g ist wenig höher als 1 mg. Dabei ist es gleich, ob das Salicylquecksilber in Öl suspendiert oder in Kochsalz gelöst ist. Am Kaninchen von ca. $2^1/_2$ kg ist in bereits publizierten Versuchen[1]) festgestellt worden, daß bei subcutaner Injektion die tödliche Dosis unter 0,1 g liegt.

Folgende Versuche sind angestellt mit einer Auflösung von Salicylquecksilber in 8%iger Diäthylendiaminlösung (Piperazin) an Kaninchen.

a) Subcutane Einspritzung.

Versuch 1.

5. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält subcutan Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung, und zwar 1 ccm = 0,04 g.

Am 6. sind 110 ccm Harn vorhanden,
„ 7. „ 420 „ „ „

An den darauffolgenden Tagen findet sich immer reichlich Harn; das Tier kommt durch.

Versuch 2.

11. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält 2 ccm einer Lösung von Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung = 0,08 g subcutan. Das Tier läßt dauernd reichlichen Harn und bleibt gesund.

Versuch 3.

21. XI. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält 0,1 g Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung subcutan.

Am	22.	sind	240	ccm	Harn vorhanden,
„	23.	„	410	„	„ „
„	24. u. 25.	„	540	„	„ „
„	26.	„	350	„	„ „
„	27.	„	360	„	„ „
„	28.	„	190	„	„ „
„	29.	„	280	„	„ „
„	30.	„	400	„	„ „

Das Tier kommt durch.

Versuch 4.

25. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2000 g erhält 0,15 g Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung subcutan.

Am 26. sind 70 ccm Harn vorhanden,
„ 27. „ 270 „ „ „
„ 28. „ 210 „ „ „

Das Tier bleibt gesund.

---

[1]) Diese Zeitschr. 36.

Versuch 5.

9. XII. 1912. Ein Kaninchen von 3550 g erhält 0,1 g Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung subcutan.

Am 10. finden sich 210 ccm Harn von dunkler Farbe, Hg ++++[1]).
„ 11. „ „ 255 „ „ , Hg +++.

Der Quecksilbergehalt des reichlichen Harns bleibt bis zum 16. ziemlich gleich.

Am 17. finden sich 390 ccm Harn, Hg ++,
„ 18. „ „ 330 „ „ Hg ++,
„ 19. „ „ 280 „ „ Hg ++.

Das Tier stirbt.

Versuch 6.

5. XI. 1912. Ein Kaninchen von 1250 g erhält 0,04 g Salicylquecksilber in 1 ccm 8%iger Piperazinlösung subcutan.

Am 6. sind 110 ccm Harn vorhanden,
„ 7. „ 420 „ „ „
„ 8. ist reichlich Harn vorhanden, ebenso am 9., 10. und 11.

Der Versuch wird abgebrochen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die tödliche Dosis des in Piperazin aufgelösten Salicylquecksilbers etwas höher liegt als bei Auflösung des Salicylquecksilbers in Kochsalz.

b) Intravenöse Einspritzung.

Versuch 1.

4. IX. 1912. Ein Kaninchen von 2200 g erhält von einer Lösung von 0,25 g Salicylquecksilber in 10 ccm 10%iger Piperazinlösung 1 ccm = 0,025 g intravenös.

Am 5. sind 110 ccm Harn vorhanden, die mit Durchfallkot vermischt sind, am 6. ist kein Harn vorhanden, am 7. ist das Tier tot. Bei der Sektion finden sich im Darm Hämorrhagien. Die Organe werden auf Hg untersucht, Leber +++, Darm +++, Lunge 0, Muskeln 0, Gehirn 0.

Versuch 2.

5. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2150 g erhält 0,02 g Salicylquecksilber in 8%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 6. sind 420 ccm Harn vorhanden,
„ 7. „ 140 „ „ „
„ 8. „ 310 „ „ „
„ 9. „ 260 „ „ „
„ 10. u. 11. „ 110 „ „ „
„ 12. „ 60 „ „ „
„ 13. „ 35 „ „ „
„ 14. „ 180 „ „ „
„ 15. „ 147 „ „ „
„ 16. „ 245 „ „ „

Das Tier kommt durch, der Versuch wird abgebrochen.

---

[1]) Die Zeichen + bedeuten die Intensität des Quecksilberspiegels, siehe diese Zeitschr. 86, 293.

Versuch 3.

5. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2150 g erhält 0,02 g Salicylquecksilber in $^1/_2$ ccm 8%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 6.	sind	420	ccm	Harn	vorhanden,
„ 7.	„	140	„	„	„
„ 8.	„	310	„	„	„
„ 9.	„	260	„	„	„
„ 10. u. 11.	„	110	„	„	„
„ 12.	„	60	„	„	„
„ 13.	„	35	„	„	„
„ 14.	„	180	„	„	„
„ 15.	„	145	„	„	„
„ 16.	„	245	„	„	„
„ 17. u. 18.	„	470	„	„	„
„ 19.	„	210	„	„	„

„ 20. u. 21. findet sich immer reichlich Harn.

Der Versuch wird abgebrochen.

Die tödliche Dosis für intravenös in Piperazinlösung aufgelöstes Salicylquecksilber ist für ein Kaninchen von 2 bis $2^1/_2$ kg 0,025 g.

B. Versuche mit Asurol.

a) Versuche bei Kaninchen (subcutan).

Versuch 1.

Ein Kaninchen von 2430 g erhält 0,3 g in 10 ccm Wasser am 9. III. 1911.

Am 10. III. besteht Durchfall und Anurie.

Am 11. III. desgleichen.

Am 12. III. ist das Tier tot. Es besteht eine schwere hämorrhagische Nephritis.

Versuch 2.

Ein Kaninchen erhält am 12. III. 0,3 g. Es entleert am 13. III. 20 ccm eines eiweißreichen mit diarrhöischem Kot vermischten Urins. Am 14. V. stirbt es. Bei der Sektion werden starke Hämorrhagien im Darm und in der Niere gefunden.

Versuch 3.

Am 27. V. erhält ein Kaninchen, Gewicht 2630 g, 0,2 g in 10 ccm Wasser injiziert.

Am 28. wurden 215 ccm Urin, der mit Durchfallkot gemengt war, gesammelt.

Am 29. fanden sich 60 ccm Harn in gleicher Weise verunreinigt.

Am 30. ist das Tier tot.

Sektionsbefund: Niere, Darm, Leber stark hämorrhagisch.

Versuch 4.

Kaninchen, 2700 g, erhält am 13. XI. 0,1 g in 10 ccm Wasser subcutan. Das Tier ist bald schwer krank. Urinsekretion schwach, Durchfälle, stirbt am 19. XI.

Die tödliche Dosis Asurol liegt für ein Kaninchen von 2 bis 3 kg bei 0,1 g.

b) Versuche an Ratten (subcutan).

Versuch 1.

Am 23. V. 1911 erhalten 3 Ratten 2, 1 und 0,5 ccm einer Lösung von Asurol 0,1 : 10, d. h. 0,005 g bis 0,02 g Asurol. Am 24. sind die Ratten tot. Die Sektion zeigte nichts besonderes.

Versuch 2.

Am 29. V. 1911 wird eine Lösung von 0,1 g Asurol in 50 ccm hergestellt, 1 ccm = 2 mg. 2 Ratten erhalten 0,5 und 1 ccm = 1 und 2 mg.

Am 30. leben beide Tiere.

Am 31. ebenfalls, das eine hat deutliches Zittern und erschwerte Atmung.

Am 2. VI. ist das Tier, das 2 mg erhalten hat, tot.

Versuch 3.

Am 30. V. 1911 erhalten 2 Ratten 3 und 4 mg Asurol.

Am 1. VI. ist das Tier, das 4 mg erhalten hat, tot. Das Tier, das 3 mg erhalten hat, stirbt am 6.

Die tödliche Dosis Asurol ist 2 mg. Die unschädliche Dosis liegt für eine Ratte von 70 bis 80 g wenig höher als 1 mg.

c) Intravenöse Einspritzung.

Versuch 1.

23. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1820 g erhält 1 ccm = 0,025 g Asurol intravenös. Es ging etwas verloren, Menge daher unsicher. Am 24. ist reichlicher Harn vorhanden, am 25. sind 500 ccm Harn vorhanden. In den nächsten Tagen bis zum 28. ist immer reichlicher Harn vorhanden. Der Versuch wird abgebrochen.

Versuch 2.

24. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1900 g bekommt 1 ccm Asurol = 0,025 g intravenös.

Am 25. sind 50 ccm Harn vorhanden, mit Durchfallkot vermischt.
„ 26. ist kein Harn vorhanden.
„ 27. sind 65 ccm Harn vorhanden, mit Durchfallkot vermischt.
„ 28. „ 190 „ „ „
„ 29. u. 30. „ 370 „ „ „
„ 1. X. „ 190 „ „ „
„ 2. X. ist das Tier tot.

Sektionsbefund: In den Nieren befinden sich Kalkablagerungen, sonst nichts Bestimmtes. Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt: Darm ++, Leber +, Lunge —.

Versuch 3.

3. X. 1912. Ein Kaninchen von 3300 g erhält 0,025 g Asurol in 1 ccm Wasser intravenös. Am 4. sind 50 ccm Harn vorhanden, das Tier hat Durchfall, am 5. ist kein Harn vorhanden. Am 7. ist das Tier tot.

Versuch 4.

11. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1820 g erhält 0,0125 g Asurol in $^1/_2$ ccm Wasser intravenös.

Am 12. sind 60 ccm Harn vorhanden,
„ 13. „ 180 „ „ „
„ 14. „ 430 „ „ „
„ 15. u. 16. „ 420 „ „ „

Das Tier wird gesund aus dem Versuch entlassen.

Die tödliche Dosis für ein Kaninchen von 2 bis $2^1/_2$ kg ist ca. 0,025 g.

C. Versuche mit Embarin.

Versuch 1.

4. II. 1913. Ein Kaninchen von ca. 2000 g erhält 0,025 g Embarin in 1 ccm Wasser intravenös.

Am 5. sind 190 ccm Harn vorhanden,
„ 6. „ 420 „ „ „
„ 7. „ 250 „ „ „
„ 7. erhält das Tier 0,0375 g Embarin intravenös.
„ 8. sind 130 ccm Harn vorhanden,
„ 9. u. 10. „ 440 „ „ „
„ 11. „ 220 „ „ „

Der Versuch wird abgebrochen.

Versuch 2.

10. II. 1913. Ein Kaninchen von 2800 g erhält 0,075 g Embarin intravenös.

Am	11.	sind	166	ccm	Harn vorhanden,	Hg +++
„	12.	„	240	„	„ „	
„	13.	„	240	„	„ „	Hg ++
„	14.	„	420	„	„ „	
„	15.	„	430	„	„ „	Hg +
„	16. u. 17.	„	730	„	„ „	
„	18.	„	400	„	„ „	Hg +
„	19.	„	530	„	„ „	
„	20.	„	600	„	„ „	
„	21.	„	620	„	„ „	
„	22.	„	500	„	„ „	

Es ist kein Hg mehr nachzuweisen, das Tier kommt durch.

Die Hauptausscheidung ist nach 3 Tagen beendet. Spuren werden noch während mehrerer Tage durch den Harn entleert.

Versuch 3.

14. II. 1913. Ein Kaninchen von 1900 g erhält 0,1 g Embarin intravenös.

Am 15. ist kein Harn vorhanden, am 16. und 17. ebenfalls nicht. Das Tier stirbt. Bei der Sektion finden sich in den Nieren kleine Blutungen unter der Kapsel und punktförmige Kalkablagerungen. Die Organuntersuchung auf Quecksilber hat folgendes Resultat: Lunge 0, Leber +++, Darm +++, Muskel deutliche Spur, Blut äußerst geringe Spur.

Die tödliche Dosis Embarin liegt bei intravenöser Einführung des Präparats bei 0,1 g. Das ist enorm hoch. Die Verteilung des Hg im Organismus zeigt wieder, daß auch hier bei intravenöser Einführung ein großer Teil den Körper durch den Harn verläßt.

D. Versuche mit Enésol.

Versuch 1.

Am 17. V. 1911 erhielten 2 kleine Ratten Injektion von 0,5 ccm Enésol, jeder Kubikzentimeter gleich 0,03 g. Am 18. sind die Ratten tot. Darm und Niere zeigten nichts Besonderes.

Versuch 2.

Am 7. VI. 1911 werden 0,06 g Enésol auf 15 ccm verdünnt, so daß jeder Kubikzentimeter 4 mg enthält. 3 Ratten erhalten $1^1/_2$, 1 und $^1/_2$ = 6, 4 und 2 mg.

Am 8. leben die Tiere.

Am 9. ebenfalls.

Am 10. stirbt das 4-mg-Tier.

Am 12. stirbt das 6-mg-Tier.

Das Tier, das 2 mg erhalten hat, ist dauernd gesund.

Versuch 3.

Am 9. VI. 1911 erhält eine Ratte 1 cg Enésol. Das Tier lebt am 10., 11., 12., 13., 14. und 15. Dann nicht mehr beobachtet.

Versuch 4.

Am 15. VI. 1911 werden 0,01 g Enésol einer Ratte injiziert. Das Tier stirbt am 17.

Versuch 5.

Am 17. VI. 1911 erhält eine Ratte 1 ccm einer Enésollösung von 2 ccm Enésol und 4 ccm Wasser (1 ccm = 0,01 g). Am 19. ist das Tier tot.

Versuch 6.

Eine Ratte erhält am 19. VI. 1911 von einer verdünnten Enésollösung 2 ccm = 4 mg injiziert.

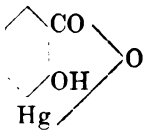
Am 19. lebt das Tier, am 21. ist es tot.

Die tödliche Dosis Enésol liegt für eine Ratte von 70 bis 80 g bei 4 mg. Die unschädliche Dosis liegt wenig höher als 2 mg.

Diese Untersuchungen zeigen eine nicht unerhebliche Differenz in der Giftigkeit des Salicylquecksilbers, je nachdem dasselbe mit Diäthylendiamin, mit monoisobutteroxysaurem Natrium, durch Einführung einer Sulfogruppe oder durch Veresterung der Oxygruppe löslicher gemacht worden ist. Das unter dem Namen Asurol in den Handel gebrachte lösliche Doppelsalz ist zweifellos für die hier benutzten Versuchstiere (Kaninchen und Ratten) am giftigsten; dann folgt das mit Diäthylendiamin löslich gemachte Salicylquecksilber; während im Embarin und im Enésol die Giftigkeit auch im Verhältnis zum geringeren Hg-Gehalt erheblich verringert ist.

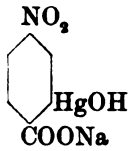
Neben diesen von uns geprüften im Handel befindlichen aromatischen Hg-Verbindungen haben wir einige analoge Verbindungen geprüft, die uns von Herrn Dr. Lüdecke zur Verfügung gestellt wurden. Es waren dies das nitrooxymercuribenzoesaure Natrium und das acetylamidomercuribenzoesaure Natrium.

Das nitrooxymercuribenzoesaure Natrium, das ca. 34% Quecksilber enthält und ungefähr die gleichen Löslichkeitsverhältnisse aufweist wie das Salicylquecksilber, enthält fast nur die Hälfte Quecksilber wie das letztere. Man kann mit ihm fast die doppelte Menge Hg auf einmal einem Kaninchen injizieren als mit dem Salicylquecksilber, bei Ratten ca. die 5fache Menge. Nach der Dimrothschen Formel des Salicylquecksilbers ist dieses



Hg-Gehalt 59%

ein sogenanntes inneres Anhydrid; während die Nitroverbindung das Natriumsalz der Nitrooxymercuribenzoesäure ist



Hg-Gehalt 34 %.

E. Versuche mit nitrooxymercuribenzoesaurem Natrium.

a) Versuche an Kaninchen.

Versuch 1.

Ein Kaninchen von 2830 g erhält 0,4 g subcutan am 27. III. 1911. Am 28. III. sind 140 ccm Harn entleert, der allkalisch reagiert, die α-Naphtholprobe ist deutlich, die Trommersche Probe positiv, Eiweiß ist eine Spur vorhanden. Nach Behandlung des Harns mit Salzsäure und Zink oder nach Stehenlassen mit Natriumamalgam wird die α-Naphtholprobe bedeutend stärker.

Am 29. III. 70 ccm Harn, α-Naphtholprobe schwach, nicht wesentlich stärker in einer mit Salzsäure und Zink behandelten Portion.

Am 30. III. alle Proben negativ, Tier krank.

Am 31. III. 150 ccm Harn, Tier gesund. Alle Proben negativ.

Versuch 2.

Ein Kaninchen von 1790 g erhält am 18. III. 0,2 g in 10 ccm Wasser aufgeschwemmt subcutan.

Am 19. III. sind 90 ccm Harn entleert, Eiweiß ist nicht vorhanden.

Am 20. III. 280 ccm Harn.

Am 21. III. 340 ccm Harn, Kaninchen gesund.

An allen 3 Tagen geben die Harne direkt nicht die α-Naphtholreaktion, dagegen gibt der Harn nach Erhitzen mit Salzsäure und Zinkstaub an allen 3 Tagen die α-Naphthol- und α-Naphthylaminprobe.

Versuch 3.

Ein Kaninchen von 1920 g erhält am 21. III. 0,2 g subcutan.

Am 22. III. sind 260 ccm Harn entleert, kein Eiweiß.

Am 23. III. sind 220 ccm Harn vorhanden, beide Harne geben direkt nicht die α-Naphtholreaktion, dagegen nach Kochen mit Salzsäure und Zinkstaub.

Versuch 4.

Am 22. III. erhält ein Kaninchen von 2200 g 0,5 g in 15 ccm Wasser aufgeschwemmt subcutan.

Am 23. III. sind 175 ccm Harn gelassen, die α-Naphtholprobe ist positiv.

Am 24. III. sind 70 ccm Harn gelassen, die α-Naphtholprobe ist positiv.

Am 25. III. 250 ccm Harn, α-Naphtholprobe zweifelhaft. Das Tier ist gesund.

Versuch 5.

Ein Kaninchen erhält 0,3 g am 27. III. subcutan.

Am 28. III. sind 120 ccm Harn entleert, derselbe reagiert schwach alkalisch, die α-Naphtholprobe ist schwach, nach Behandeln des Harns mit Salzsäure und Zinkstaub ist die α-Naphtholprobe sehr stark.

Am 29. III sind 120 ccm Harn gelassen, die α-Naphtholprobe ist schwach, nach Behandeln des Harns mit Salzsäure und Zinkstaub ist die Reaktion sehr stark.

Am 30. III. sind 370 ccm Harn gelassen, alle Reaktionen sind negativ. Das Tier ist dauernd gesund.

Versuch 6.

Am 1. V. 1911 erhält ein Kaninchen von 2200 g ca. 0,5 g in 20 ccm Wasser aufgeschwemmt um 11 Uhr eingespritzt. Bis 2 Uhr waren 90 ccm Harn gelassen, der mit α-Naphthol keine Farbreaktion gab; auch nach vorherigem Reduzieren mit Zinkstaub und Salzsäure trat in der Wärme keine Reaktion ein. Vom 2. bis zum 3. Tage wurde kein Harn gelassen, am 4. Tage war der Tod eingetreten.

Sektionsergebnis: In der Harnblase gefundener Urin wurde mittels der α-Naphtholreaktion geprüft; er gab positive, jedoch nicht sehr starke Reaktion, auch mit α-Naphthylamin war die Reaktion schwach positiv bei längerem Stehenlassen. Der Darm zeigte leichte Injektion der Gefäße; die Nieren akute Nephritis, an der Injektionsstelle sulziges Ödem.

Versuch 7.

Am 2. V. erhielt ein Kaninchen von 1830 g in 15 bis 20 ccm Wasser gelöst. Es trat Durchfall ein.

Am 3. V. wurden 18 ccm Flüssigkeit gesammelt.

Vom 3. zum 4. Tage wurde kein Urin gelassen.

Am 5. fanden sich ca. 20 ccm Harn. Die Reaktion mit α-Naphthol verlief positiv, das Tier ging ein.

Sektionsbefund: Darm normal, an der Injektionsstelle sulziges Ödem, Harnblase leer, Nieren stark hämorrhagisch, Ascitesflüssigkeit gab eine deutliche positive Reaktion mit α-Naphthol.

Versuch 8.

Am 19. V. 1911 erhält Kaninchen, 3850 g schwer, 0,5 g per os.

Am 20. V. 60 ccm Harn, der weder vor noch nach der Reduktion mit Salzsäure und Zinkstaub mit α-Naphthol reagierte. Im Futternapf fanden sich noch 90 ccm Harn, der sich ebenso negativ verhielt. Das Tier hatte $^3/_4$ des Futters gefressen und hatte etwas Durchfall.

Um 11 Uhr 30 Min. wurden 170 ccm Harn entleert, die direkt mit α-Naphthol und α-Naphthylamin reagierten. Die α-Naphtholprobe verstärkte sich nach der Reduktion mit Zinksaub.

Am 21. V. waren 90 ccm Harn vorhanden, die direkt mit α-Naphthol und α-Naphthylamin reagierten.

Am 22. V. 55 ccm Harn; direkt mit α-Naphthol trat keine Reaktion ein, nach der Reduktion mit Salzsäure und Zinkstaub eine schwach positive. Am Nachmittag des 22. V. starb das Tier unter Krampferscheinungen. Das Blut wurde mit Wasser gekocht, abfiltriert und das Filtrat mit α-Naphthol direkt und nach Reduktion geprüft; es trat keine Reaktion ein. Der Darminhalt, ebenso geprüft, gab eine zweifelhafte Reaktion mit α-Naphthol. Darminhalt, Leber und Gehirn wurden mit Salzsäure uud chlorsaurem Kali zerstört und auf Quecksilber geprüft.

Darminhalt enthielt Hg ++++, Leber ++, Blut und Gehirn enthielten kein Hg. Der am 20. V. gesammelte Harn enthielt sehr geringe Spuren.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. daß 0,3 bis 0,4 g bei subcutaner Anwendung die tödliche Dosis für ein Kaninchen von 2 bis 3 kg ist;

2. daß ein Teil des Nitroquecksilberbenzoats im Organismus zu dem Amidoprodukt reduziert wird;

3. diese Reduktion findet nicht erst in den Nieren statt, wie der positive Ausfall der Naphtholreaktion in der Ascitesflüssigkeit beweist;

4. die Hg-Ausscheidung dauert nach einer einzigen Einspritzung wochenlang. Sie findet statt durch die Niere und durch den Darm;

5. eine Ablagerung von Quecksilber findet nur in der Leber statt, wenigstens enthielten das Blut und das Gehirn kein Quecksilber zu einer Zeit, als noch deutliche Mengen Hg in der Leber nachzuweisen waren.

b) Versuche an Ratten.

Versuch 1.

Am 19. VI. 1911 wird eine Lösung 0,2 g auf 50 ccm 1%iger Kochsalzlösung mit etwas Soda hergestellt (1 ccm = 4 mg). 3 Ratten erhalten von dieser Lösung 2, $2^1/_2$ und 3 ccm in 8, 10 und 12 mg subcutan. Die Tiere werden bis zum 26. beobachtet, leben dauernd.

Versuch 2.

Am 23. VI. erhalten 2 Ratten 4 und 5 ccm einer Lösung, d. h. 16 bzw. 20 mg. Die Tiere werden bis zum 30. beobachtet, sie erscheinen gesund.

Versuch 3.

Am 27. VI. erhalten 2 Ratten 0,02 und 0,03 g in Öl. Die Tiere leben am 4. VII. und sind gesund.

Versuch 4.

Am 29. VI. erhalten 2 Ratten 0,05 und 0,01 g in Öl subcutan. Die Tiere leben dauernd.

Versuch 5.

Am 30. VI. erhalten 2 Ratten 0,2 und 0,3 g in Öl subcutan. Am 8. VII. ist das Tier, das 0,3 g, am 11. das Tier, das 0,2 g erhalten hat, tot.

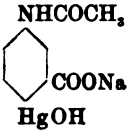
Versuch 6.

Am 10. VII. werden 0,2 g in ca. 10 ccm einer 1%igen Kochsalzlösung einer großen Ratte subcutan injiziert. Am 24. stirbt das Tier (Nekrose?).

Man kann demnach von Nitroquecksilberbenzoat mindestens 20 mg in Lösung und 0,1 g in Öl verrieben einer Ratte von ca. 70 bis 80 g ohne sichtbare Schädigung subcutan einverleiben.

F. Versuche mit acetylaminomercuribenzoesaurem Natrium[1]).

a) An Kaninchen (subcutan).



Acetylaminomercuribenzoesaures Natrium, Hg-Gehalt = 48%.

Versuch 1.

Am 14. XI. 1911 erhält ein Kaninchen von 1540 g 0,2 g. Am 17. werden 50 ccm Harn gesammelt, der eiweißhaltig ist und die α-Naphtholreaktion gibt. Am 18. ist das Tier tot.

Versuch 2.

Am 18. XI. erhält ein Kaninchen von 2490 g 0,1 g subcutan. Am 20. und 21. läßt das Tier 90 ccm Harn, der mit Kot vermengt ist.

Am	22. und	23.	werden	210	ccm	Harn gesammelt,
„	24.		„	160	„	„ „
„	25.		„	100	„	„ „
„	26.	„ 27.	„	540	„	„ „
„	28.		„	390	„	„ „
„	29.		„	490	„	„ „
„	30.		„	360	„	„ „

[1]) Dargestellt von Dr. Lüdecke. Unter dem Namen Toxynon geschützt.

Vom 2. XII. an wird der Urin auf Hg untersucht. Am 1. und 2. XII. sind 590 ccm Harn gesammelt worden, Hg +, am 3. und 4. 540 ccm, Hg +, am 7. werden 420 ccm Harn auf Hg untersucht, Hg +, am 11. 360 ccm Harn. Am 11. XII. gesund und aus dem Versuch entlassen.

Versuch 3.

Ein Kaninchen von 2370 g erhält am 20. XI. 0,1 g subcutan.

Am 21. werden 160 ccm Harn gesammelt,
„ 22. und 23. „ 90 „ „ „
„ 24. „ 150 „ „ „
„ 25. „ 20 „ „ „
„ 26. ist das Tier tot.

Versuch 4.

Am 24. XI. erhält ein Kaninchen von 1700 g 0,2 g subcutan. Am 25. hat das Tier Durchfall und hat 20 ccm Harn gelassen.

Am 27. ist kein Harn vorhanden,
„ 28. werden 110 ccm Harn gesammelt,
„ 29. „ 100 „ „ „
„ 30. „ 60 „ „ „
„ 1. XII. ist das Tier tot.

Versuch 5.

Ein Kaninchen von 1920 g erhält am 13. III. 1912 0,1 g subcutan [1]).

Am 14. sind 140 ccm Harn vorhanden,
„ 15. „ 160 „ „ „
„ 16. „ 260 „ „ „

Das Tier lebt am 25. noch und scheint gesund zu sein.

Versuch 6.

29. IV. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält 0,1 g subcutan.

Am 30. IV. ist kein Harn vorhanden,
„ 1. V. werden 310 ccm Harn gesammelt,
„ 2. V. „ 320 „ „ „

Am 8. V. werden 340 ccm Harn auf Quecksilber untersucht, Hg +. Das Tier wird am 13. V. gesund aus dem Versuch entlassen.

Versuch 7.

9. IX. 1912. Ein Kaninchen von 3030 g erhält 0,15 g acetylaminomercuribenzoesaures Natrium subcutan. Das Präparat ist mit 10 ccm Wasser mit 3 Tropfen Normalnatronlauge in Lösung gebracht.

Am 10. sind 110 ccm Harn vorhanden, die die α-Naphtholprobe geben, die sich nach Kochen des Harns mit Salzsäure verstärkt.

Am 11. sind 460 ccm Harn vorhanden,
„ 12. „ 470 „ „ „
„ 13. und 14. „ 1000 „ „ „

Das Tier wird am 16. gesund aus dem Versuch entlassen.

---

[1]) Dieses Präparat ist anscheinend reiner als das erste im Versuch 1 bis 4 benutzte.

Versuch 8.

27. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1760 g erhält 0,2 g Toxynon in ca. 14 ccm Wasser subcutan. Am 28. sind 40 ccm Harn vorhanden, die mit Durchfallkot vermischt sind, am 29. und 30. sind 30 ccm Harn vorhanden. Das Tier stirbt. Die Organe, auf Quecksilber untersucht, ergeben: Leber ++, Darm ++, Lunge +, Gehirnmuskeln +.

Versuch 9.

7. X. 1912. Ein Kaninchen von 3380 g erhält 0,2 g in 10 ccm Wasser subcutan. Am 8. ist kein Harn vorhanden, ebensowenig am 9. Am 10. sind 160 ccm Harn vorhanden, am 11. 40 ccm, am 12. gleichfalls 40 ccm. Das Tier stirbt (Stallinfektion).

Versuch 10.

16. X. 1912. Ein Kaninchen von 2550 g erhält 0,175 g in 10 ccm Wasser subcutan. Am 17. ist kein Harn vorhanden, ebensowenig am 18. und 19. Am 20. ist das Tier tot. Organuntersuchung auf Quecksilber ergibt: Darm +++, Leber ++, Lunge +, Muskeln 0.

Versuch 11.

21. X. 1912. Ein Kaninchen von 2900 g erhält 0,16 g in 10 ccm Wasser subcutan. Am 22. ist kein Harn vorhanden, ebensowenig am 23. Am 24. finden sich 85 ccm Harn, die wenig Eiweiß enthalten. Am 25. ist das Tier tot. Es finden sich 90 ccm blutigen Harns. Bei der Organuntersuchung finden sich im Darm Hg +++, Leber ++, Lunge +, Muskeln Spur.

Versuch 12.

2. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2170 g erhält 0,14 g in 7 ccm Wasser gelöst subcutan.

Am 3. und 4. sind 40 ccm Harn vorhanden,
„ 5. findet sich kein Harn.

Versuch 13.

7. XI. 1912. Ein Kaninchen von 1820 g erhält 0,12 g in ca. 8 ccm Wasser gelöst.

Versuch 14.

12. XI. 1912. Ein Kaninchen von 3370 g erhält 0,15 g in Wasser gelöst subcutan. Am 13. findet sich kein Harn, ebensowenig am 14.

Am 15. sind 120 ccm Harn vorhanden,
„ 16. „ 140 „ „ „ „
„ 17. und 18. findet sich kein Harn,
„ 19. sind 170 ccm Harn vorhanden,
„ 20. und 21. kein Harn,
„ 22. 240 ccm Harn, der saure Reaktion zeigt.

Das Tier stirbt.

c) Versuche an Ratten (subcutan).

Versuch 1.

Am 11. XI. werden 0,1 g in 10 ccm Wasser gelöst. 3 große Ratten erhalten 5, 3 und 2 ccm = 0,05, 0,03, 0,02 g. Das 5-ccm-Tier stirbt am gleichen Tage (Gewicht des Tieres 220 g). Die anderen beiden sterben am 13. und 14. XI. Leber enthält +, Darm ++, Lunge Spuren, Gehirn 0.

Versuch 2.

Am 18. XI. werden 0,1 g in 10 ccm Wasser gelöst. 2 Ratten erhalten 1 und 2 ccm = 0,01 und 0,02 g. Am 20. ist das Tier, das 2 ccm erhalten hat, krank (Zittern). Am 21. ist das Tier, das 2 ccm erhalten hat, tot. Das andere lebt am 29. noch und kommt durch.

Versuch 3.

Am 23. XI. erhält eine Ratte 0,01 g in 1 ccm Wasser. Das Tier stirbt am 28.

Versuch 4.

Am 13. III. 1912 erhalten 2 Ratten je 0,01 g subcutan. Die Tiere leben am 25. noch und kommen durch.

Versuch 5.

Am 17. X. 1912 erhalten 2 Ratten von einer Lösung 0,1 g in 10 ccm Wasser 1 bzw. $2^1/_2$ ccm subcutan (0,01 und 0,025 g). Am 8. leben die Tiere. Das Tier, das die größere Dosis erhalten hat, scheint krank. Am 9. stirbt dieses Tier, das andere stirbt am 10. Es finden sich bei diesem Tier bei der Sektion in der Lunge Eiterherde. Die Organuntersuchung ergibt Tier I: Leber ++, Darm +++, Lunge +, Gehirn —, Muskeln +. Tier II: Leber ++, Darm +, Lunge +, Gehirn —, Muskeln minimale Spur.

Versuch 6.

29. X. 1912. 3 Ratten erhalten von einer Lösung 0,1 g zu 10 ccm Wasser $^1/_2$, $^3/_4$ und 1 ccm = 0,005, 0,0075 und 0,01 g; 3 andere in 1%iger Piperazinlösung die gleiche Menge. Am 30. leben alle Tiere, am 31. erscheint das Tier mit 0,01 g in 1%iger Piperazinlösung krank. Am 1. XI. ist das Tier tot, die anderen leben am 5. XI. und sind anscheinend gesund.

Versuch 7.

15. XI. 1912. 0,01 g in 1%iger Piperazinlösung werden einer Ratte subcutan gegeben. Das Tier bleibt dauernd gesund.

Versuch 8.

26. X. 1912. Eine Ratte erhält 0,015 g in 1%iger Piperazinlösung subcutan. Das Tier stirbt.

Tödliche Dosis über 0,01 g.

b) Intravenöse Injektion.

Versuch 1.

4. IX. 1912. Ein Kaninchen von 2370 g erhält ca. 0,03 g acetylaminomercuribenzoesaures Natrium in 1 bis $1^1/_2$ ccm 10%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 5. sind 170 ccm Harn gelassen,
„ 6. „ 260 „ „ „
„ 7. „ 100 „ „ „

Von da an ist immer reichlich Harn vorhanden; das Tier lebt am 12. noch und kommt durch.

Versuch 2.

12. IX. 1912. Ein Kaninchen von 2370 g erhält 0,025 g acetylaminomercuribenzoesaures Natrium in 1 ccm 10%iger Piperazinlösung intravenös. Das Tier wird am 13. IX. nach 20 Stunden getötet. Die Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt: Blut 0, Leber Spur, Darm ++, Muskeln 0, Lunge 0.

Versuch 3.

23. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1800 g bekommt 0,025 g des acetylaminomercuribenzoesauren Natriums (Toxynon) in 1 ccm 10%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 24. sind 420 ccm Harn vorhanden, der auf Quecksilber untersucht wird, Hg ++++,
„ 25. „ 460 „ „ „
„ 26. „ 260 „ „ „ , Untersuchung auf Quecksilber ergibt Hg +,
„ 27. „ 360 „ „ „
„ 28. „ 430 „ „ „ , Hg —.

Das Tier wird gesund aus dem Versuch entlassen.

Versuch 4.

26. IX. 1912. Ein Kaninchen von 1800 g erhält 0,025 g Toxynon in $1^1/_2$ ccm Wasser intravenös.

Am 27. IX. sind 170 ccm Harn vorhanden,
„ 28. IX. „ 100 „ „ „
„ 29. u. 30. IX. „ 320 „ „ „
„ 1. X. „ 140 „ „ „
„ 2. X. „ 60 „ „ „

Am 4. X. ist das Tier tot. Es erlitt am 30. IX. einen schweren Sturz, Todesursache daher unsicher.

Versuch 5.

30. IX. 1912. Ein Kaninchen von 2560 g erhält 0,045 g Toxynon in 1,8 ccm Wasser gelöst intravenös.

Am 1. X. sind 170 ccm Harn vorhanden,
„ 2. X. „ 300 ccm „ „

In den nächsten Tagen, bis zum 8., ist immer reichlich Harn vorhanden. Das Tier wird gesund aus dem Versuch entlassen.

Versuch 6.

8. X. 1912. Ein Kaninchen von 2470 g erhält 3 ccm einer Toxynonlösung 0,2 g in 10 ccm Wasser, intravenös = 0,075 g.

Am 9. X. sind 90 ccm Harn vorhanden, der etwas Eiweiß enthält, α-Naphtholprobe negativ, Untersuchung auf Quecksilber ergibt ++++.

Am 10. X. sind 90 ccm Harn vorhanden, Hg +++.

Am 11. X. ist das Tier tot. Ergebnis der Organuntersuchung: Leber Hg +++, Darm ++++, Lunge, Gehirn und Muskeln —.

Versuch 7.

21. X. 1912. Ein Kaninchen von 2950 g erhält in 1 ccm 1%iger Piperazinlösung 0,05 g Toxynon intravenös. Das Tier zeigt sehr schnelle Atmung nach der Injektion.

Am 22. ist kein Harn vorhanden,
„ 23. sind 180 ccm Harn vorhanden, die etwas Eiweiß enthalten,
„ 24. findet sich kein Harn,
„ 25. sind 225 ccm Harn vorhanden,
„ 26. „ 80 ccm „ „ , die kein Eiweiß enthalten.

Am 29. X. ist das Tier tot. Bei der Sektion finden sich im Darm Hämorrhagien. Das Tier hatte Nephritis und starke Kalkablagerung in den Nieren. Die Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt: Darm +++, Leber +, Lunge, Muskeln 0.

Versuch 8.

22. X. 1912. Ein Kaninchen von 3330 g erhält 0,025 g Toxynon in ½ ccm 1%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 23. sind 110 ccm Harn vorhanden, minimale Spuren Eiweiß,
„ 24. „ 150 „ „ „ , minimale Spuren Eiweiß,
„ 25. „ 250 „ „ „ , kein Eiweiß.

Der Versuch wird abgebrochen, da das Tier augenscheinlich gesund ist.

Versuch 9.

24. X. 1912. Ein Kaninchen von 2000 g erhält 0,05 g Toxynon in 1 ccm 1%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 25. sind 60 ccm Harn vorhanden, die mit Durchfallkot vermischt sind, am 26. findet sich kein Harn.

Am 27. und 28. X. sind 120 ccm Harn vorhanden,
„ 29. X. „ 45 „ „ „

Am 30. X. ist das Tier tot.

Versuch 10.

24. X. 1912. Ein Kaninchen von 1820 g erhält ½ ccm = 0,025 g Toxynon in 0,2%iger Piperazinlösung gelöst intravenös.

Am 25. sind 20 ccm Harn vorhanden mit Durchfallkot,
„ 26. „ 35 „ „ „ „ „
„ 27. u. 28. „ 110 „ „ „ , der dunkel gefärbt ist (Blut),
„ 29. u. 30. findet sich kein Harn,
„ 31. sind 75 ccm Harn vorhanden, dunkel gefärbt,
„ 1. XI. „ 180 „ „ „ , der noch etwas Blutfarbstoff enthält,
„ 2. XI. „ 210 „ „ „
„ 3. u. 5. „ 410 „ „ „
„ 5. „ 280 „ „ „

Das Tier scheint gesund zu sein.

Versuch 11.

25. X. 1912. Ein Kaninchen von 3030 g erhält 1 ccm = 0,05 g Toxynon in 0,2%iger Piperazinlösung intravenös.

Am 26. sind 70 ccm Harn vorhanden, kein Eiweiß,
„ 27. u. 28. „ 30 ccm „ „
„ 29. ist kein Harn vorhanden,
„ 30. sind 170 ccm Harn vorhanden, der etwas Eiweiß enthält.

Am 31. ist das Tier tot.

Versuch 12.

2. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2120 g erhält 0,05 g Toxynon in 10 ccm Wasser intravenös.

Am 3. und 4. sind zusammen 120 ccm Harn vorhanden, die kein Eiweiß enthalten, am 5. sind 90 ccm Harn vorhanden, die ebenfalls eiweißfrei sind.

Versuch 13.

17. II. 1913. Ein Kaninchen von 1800 g erhält 0,05 g einer Lösung von Toxynon in 1%iger Natriumchloridlösung intravenös. Am 18. findet sich kein Harn, am 19. sind 90 ccm vorhanden, am 20. ist das Tier tot. Bei der Öffnung finden sich Hämorrhagien im Darm und Kalkablagerungen in den Nieren. In den Nieren findet sich Hg +++, Muskeln 0.

Tödliche Dosis intravenös 0,05 g.

c) Einführung per os.

Versuch 1.

22. XI. 1912. Ein Kaninchen von 2650 g erhält 0,1 g acetaminomercuribenzoesaures Natrium in 20 ccm Wasser gelöst per os. Das Tier, das gesund blieb, wurde am 25. getötet. Die Organe auf Quecksilber untersucht ergeben: Blut deutliche Spuren, Darm ++++, Leber ++, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln 0, Urin ++.

Versuch 2.

Ein Kaninchen von 2650 g erhält 0,1 g acetaminomercuribenzoesaures Natrium gelöst per os.

Am 16. sind 140 ccm Harn vorhanden,
„ 17. u. 18. „ 450 „ „ „

In den darauffolgenden Tagen findet sich immer reichlich Harn; das Tier bleibt dauernd gesund.

Versuch 3.

57. XI. 1912. Ein Kaninchen von 1900 g erhält 0,1 g acetaminomercuribenzoesaures Natrium per os in 20 ccm Wasser gelöst.

Am 28. sind 20 ccm Harn vorhanden,
„ 29. „ 40 „ „ „

Am 30. wird das Tier getötet, Harn und Organe werden auf Hg untersucht. Harn ++++, Darm +++, Leber ++, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln 0, Blut geringe Spur.

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß das Toxynon erstens per os in den gleichen Mengen gut vertragen wird, die auch intramuskulär angewandt werden können. Ferner zeigt sich die interessante Tatsache, daß die Verteilung des Hg im Organismus anscheinend die gleiche ist wie bei der intramuskulären Darreichung, d. h. daß vom Darm aus eine große Menge resorbiert wird, wie der sehr starke Gehalt des Harns an Hg beweist. Ferner sehen wir, daß in der Leber eine ziemlich reichliche Deponierung von Hg statthat, während andere Organe frei von Hg gefunden wurden. Es läßt also dieses Ergebnis erhoffen, daß man dieses Präparat auch per os verwenden kann.

Wir haben gesehen, daß die Toxizität der aromatischen Quecksilberverbindungen erheblich differiert, je nachdem das Quecksilber vollständig maskiert ist oder nicht. Die halbmaskierten Verbindungen sind wesentlich giftiger als die ganz maskierten, aber die halbmaskierten Verbindungen scheinen wieder wesentlich ungiftiger zu sein wie die ionisierbaren, soweit darüber Literatur vorliegt. Wir haben mit den letzteren eine Reihe Giftigkeitsbestimmungen angestellt und konnten naturgemäß bei der unendlich großen Zahl der Verbindungen nur verhältnismäßig wenige untersuchen. Wir haben uns daher meist auf die beschränkt, die bisher in der Praxis eine Verwendung finden. Die Resultate waren folgende:

Versuche mit ionisierbaren Quecksilberverbindungen.

1. Sublimat ($HgCl_2$).

Versuch 1.

Ein Kaninchen von 2820 g erhält 0,06 g Sublimat am 7. III. 1911 subcutan.

Am 8. III. sind 20 ccm Urin entleert, derselbe enthält stark Eiweiß und Blut.

Am 9. III. sind 15 ccm entleert, derselbe enthält kolossale Mengen Eiweiß, Blut, ferner besteht Durchfall.

Am 10. III. besteht vollständige Anurie.

Am 11. III. ist das Kaninchen tot.

Versuch 2.

Am 6. III. erhält ein Kaninchen von 1810 g 0,03 g Sublimat subcutan.

Am 7. III. sind 70 ccm Urin vorhanden, derselbe enthält stark Eiweiß.

Am 8. III. 40 ccm Urin.

Am 9. III. ist das Tier tot.

Starke Hämorrhagien im Dickdarm, weniger starke im Dünndarm, trübe Schwellung der Nieren, hämorrhagische Zone in der Marksubstanz.

Versuch 3.

Am 8. III. erhält ein Kaninchen von 2060 g 0,02 g Sublimat subcutan.

Am 9. III. beträgt die Urinmenge 60 ccm, starke Albuminurie.

Am 11. III. ist das Tier tot.

Versuch 4.

Am 10. III. erhält ein Kaninchen von 2325 g 0,01 g Sublimat subcutan. Das Kaninchen ist anscheinend dauernd gesund.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die tödliche Dosis für ein Kaninchen von 2 kg ca. 2 cg Sublimat beträgt.

2. Versuche mit Kalomel (HgCl).

Versuch 1.

Am 24. V. 1911 werden einer Ratte 0,03 g Kalomel in 3 ccm Öl injiziert. Die Ratte lebt am 26. noch.

Versuch 2.

Am 29. V. wird 0,1 g Kalomel in 5 ccm Olivenöl einer großen Ratte injiziert.

Bis zum 2. VI. war das Tier völlig gesund. Nachher nicht mehr beobachtet.

Versuch 3.

Am 9. VI. erhält eine große Ratte 0,2 g Kalomel in ca. 8 ccm Olivenöl aufgeschwemmt. Bei der Injektion ging etwas durch Ausfließen verloren.

Vom 10. bis 15. beobachtet, anscheinend gesund.

Versuch 4.

Am 20. VI. werden 0,3 g Kalomel in Öl einer großen Ratte injiziert. Das Tier lebt am 27. noch.

Versuch 5.

Am 24. erhält eine große Ratte 0,4 g Kalomel in Öl. Das Tier lebt am 28. noch.

Diese Versuche zeigen, daß Kalomel, in Öl verrieben subcutan eingespritzt, für Ratten von einer ganz auffallenden Ungiftigkeit ist. Es muß allerdings bemerkt werden, daß einige dieser Ratten einige Wochen, nachdem sie aus dem Versuch entlassen waren, tot aufgefunden wurden, was darauf schließen läßt, daß es zu einer mehr chronischen Vergiftung kommt. Trotzdem ist das Resultat höchst auffällig.

3. Versuche mit p-amidobenzoesaurem Quecksilber[1]).

Versuch 1.

3 Ratten erhalten am 17. VI. 1911 von einer Lösung von 0,1 g p-amidobenzoesaurem Quecksilber in 50 ccm Wasser (1 ccm = 2 mg) 1, $1^1/_2$ und 2 ccm = 2, 3 und 4 mg.

Am 19. ist das 4-mg-Tier tot. Die beiden anderen leben.

Am 20. geht das 3-mg-Tier ein, am 21. das 2-mg-Tier.

Versuch 2.

Am 13. VI. wird 0,1 g p-amidobenzoesaures Quecksilber in 40 ccm Wasser gelöst (1 ccm = 2 mg). 2 Ratten erhalten 2 und 3 mg.

Am 14. ist das 3-mg-Tier tot, das andere lebt noch am 15. Am 17. stirbt das 2-mg-Tier.

---

[1]) Das Salz fiel aus einer Lösung von p-Amidobenzoesäure bei Zusatz von Quecksilberbichloridlösung aus. In kaltem Wasser unlöslich, löste es sich beim Kochen mit viel Wasser in violetter Färbung. Schwefelwasserstoffwasser und Ammonsulfid schwärzen es sofort. Die Produkte sind aber nicht konstant. Bei wiederholten Darstellungsversuchen wurden verschiedene, zum Teil recht zersetzliche Produkte erhalten.

Versuch 3.

Am 9. X. werden 0,1 g p-amidobenzoesaures Quecksilber in 1%iger Natriumchloridlösung, der man 2 Tropfen Soda zufügt, auf 25 ccm gebracht (1 ccm = 0,04 g). 3 Ratten erhalten 6, 4 und 2 mg subcutan.

Das Tier, das 6 mg erhalten hat, ist am selben Tage tot, am 10. und 11. leben das 4- und 2-mg-Tier, am 12. sind auch diese Tiere tot.

Die tödliche Dosis liegt also mindestens bei 0,002 g.

4. Versuche mit o-amidobenzoesaurem Quecksilber.

Versuch 1.

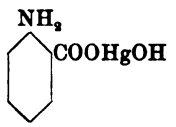
Am 9. X. 1911 erhalten 3 Ratten 6, 4 und 2 mg des krystallisierten Quecksilbersalzes der Orthoaminobenzoesäure (Lösung ist hergestellt von 0,1 g Salz in hinreichend 1%iger Chlornatriumlösung mit Sodazusatz, durch starkes Kochen gelöst). Das 6- und 4-mg-Tier sterben noch am selben Tage. Am 10. und 11. lebt das 2-mg-Tier, am 12. ist auch dieses tot.

Versuch 2.

Am 10. X. erhält eine Ratte 6 mg in 1%iger Natriumchloridlösung aufgeschwemmt. Am 11. und 12. lebt das Tier, am 13. ist es tot.

Dieses Salz ist demnach sehr giftig, die tödliche Dosis ist mindestens 0,002 g für eine Ratte von 70 g.

Das Salz schied sich in bräunlichen Krystallen aus einer Lösung von 2 Molekülen Anthranilsäure und 1 Molekül Quecksilberbichlorid aus. Es war in kaltem Wasser unlöslich, etwas in heißem. In einer hinreichenden Menge 1%iger Kochsalzlösung mit etwas Sodazusatz löste es sich bei starkem Kochen; mit Schwefelwasserstoff und Ammonsulfid färbte es sich sofort schwarz. Die Stickstoffbestimmung ergab 3,79%, Quecksilbergehalt 56,8% bei Annahme folgender Formel:



5. Versuche mit paranucleinsaurem Quecksilber[1]).

a) An Ratten.

Versuch 1.

16. I. 1913. Eine Ratte erhält 0,005 g Quecksilber in einer Lösung von paranucleinsaurem Silber subcutan. Am 17. lebt das Tier, ist aber krank, am 18. ist es tot.

Versuch 2.

18. I. 1913. Eine Ratte erhält 0,002 g Quecksilber von der gleichen Lösung. Das Tier ist am 22. krank und stirbt am 23. I.

[1]) Diese Verbindung wurde uns freundlichst von Herrn Geheimrat Salkowski zur Verfügung gestellt.

Versuch 3.

23. I. 1913. Eine Ratte erhält 0,001 g Quecksilber von der gleichen Lösung und ist am 24. tot.

Versuch 4.

4. III. 1913. Eine Ratte erhält 1 mg Quecksilber von der gleichen Lösung subcutan. Das Tier lebt am 18. noch und kommt durch.

Versuch 5.

7. III. 1913. Eine Ratte erhält 2 mg Quecksilber von der gleichen Lösung und ist am 9. tot.

Versuch 6.

11. III. 1913. Eine Ratte erhält 1 mg von der gleichen Lösung. Das Tier stirbt am 17. III.

Ratten von ca. 100 g vertragen demnach höchstens 1 mg Hg.

b) Versuche an Kaninchen.

Versuch 1.

28. I. 1913. Ein Kaninchen von 1840 g erhält 5 mg Quecksilber in 1 ccm von paranucleinsaurem Quecksilber subcutan.

Am 29. I. sind 50 ccm Harn vorhanden von dunkler Farbe, Hg ++
„ 30. I. „ 300 „ „ „
„ 31. I. „ 170 „ „ „ , Hg Spuren,
„ 1. II. „ 450 „ „ „
„ 2. u. 3. II. „ 450 „ „ „

Das gleiche Tier erhält am 3. II. 1 cg der gleichen Lösung subcutan. Am 4. sind 245 ccm Harn vorhanden, am 5. 280 ccm. Das Tier läßt dauernd reichlich Harn. Am 10. II. erhält es 0,015 g in 3 ccm der gleichen Lösung subcutan.

Am 11. sind 240 ccm Harn vorhanden,
„ 12. „ 200 „ „ „

Das Tier läßt dauernd reichlich Harn und scheint am 21. völlig gesund zu sein.

Die Hg-Ausscheidung dauert bei 5 mg 3 Tage.

Versuch 2.

18. II. 1913. Ein Kaninchen von 1950 g erhält 2 cg Hg (in 4 ccm) paranucleinsaurem Quecksilber subcutan.

Am 19. sind 70 ccm Harn vorhanden, am 20. kein Harn,
„ 21. „ 60 „ „ „
„ 22. „ 30 „ „ „ , mit Durchfallkot gemischt.

Am 4. III. ist das Tier tot. Bei der Sektion zeigt sich an der Einstichstelle dunkle Verfärbung, wahrscheinlich kadaveröse Veränderung

infolge Bildung von Schwefelquecksilber. In den Nieren finden sich Kalkablagerungen, im Darm Blutungen; der Kot enthält Hg ++.

Versuch 3.

27. II. 1913. Ein Kaninchen von 2300 g erhält 0,015 g Quecksilber in 3 ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber. Am 28. sind 70 ccm Harn vorhanden, Hg +++. Das Tier wird getötet. An der Injektionsstelle zeigt sich nur eine unbedeutende Reaktion (s. Versuch 2). Das Blut, auf Hg untersucht, ergibt Hg +.

Versuch 4.

27. II. 1913. Ein Kaninchen von 1800 g erhält 0,005 g Quecksilber in 1 ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber subcutan. Am 28. sind 65 ccm Harn vorhanden, Hg ++.

Es werden abermals 0,005 g Hg gespritzt. Am 1. III. sind 30 ccm Harn vorhanden, Hg +++.

Dritte Injektion von 0,005 g.

Am 3. III. ist das Tier tot. An der Injektionsstelle zeigt sich nichts Besonderes.

Versuch 5.

3. III. 1913. Ein Kaninchen von 2100 g erhält 0,001 g Quecksilber in $^1/_5$ ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber intravenös.

Am 4. ist kein Harn vorhanden,
„ 5. sind 110 ccm Harn vorhanden, Hg +
„ 6. „ 220 „ „ „
„ 7. „ 320 „ „ „ , Hg negativ
„ 8. „ 410 „ „ „
„ 9.,10. u. 11. „ 560 „ „ „

Der Versuch wird abgebrochen. Nur der erste entleerte Harn (24 bis 48 Stunden nach der Injektion) enthielt Hg, und zwar in geringer Menge. Offenbar wird bei intravenöser Einführung ebenfalls ein großer Teil durch den Darm ausgeschieden.

Versuch 6.

6. III. 1913. Ein Kaninchen von 1810 g erhält 0,002 g Quecksilber in $^2/_5$ ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber intravenös.

Am 7. sind 30 ccm Harn vorhanden,
„ 8. „ 20 „ „ „
„ 9.,10. u. 11. „ 270 „ „ „
„ 12. „ 80 „ „ „
„ 13. „ 50 „ „ „
„ 14. „ 10 „ „ „
„ 15. „ 20 „ „ „
„ 16. u. 17. „ 15 „ „ „

Am 18. ist das Tier tot.

Versuch 7.

7. III. 1913. Ein Kaninchen von 1900 g erhält 0,005 g Quecksilber in $^3/_5$ ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber subcutan.

Am 8. ist kein Harn vorhanden.
„ 9.,10.u.11. sind 260 ccm Harn vorhanden,
„ 12. „ 165 „ „ „
„ 13. „ 150 „ „ „
„ 14. „ 40 „ „ „
„ 15. „ 80 „ „ „
„ 16.u.17. „ 190 „ „ „
„ 18. „ 180 „ „ „
„ 19. „ 220 „ „ „

Versuch 8.

11. III. 1913. Ein Kaninchen von 2000 g erhält 0,01 g Hg in 2 ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber intravenös. Das Tier stirbt sofort (Embolie).

Versuch 9.

12. III. 1913. Ein Kaninchen von 2150 g erhält 6 mg Quecksilber in einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber intravenös. Am 13. findet sich kein Harn, ebensowenig am 14.

Am 15. sind 60 ccm Harn vorhanden,
„ 16.u.17. „ 180 „ „ „

Am 18. ist das Tier tot. Der Sektionsbefund ergibt: Darm stark injiziert, jedoch keine Blutungen, Nieren trübe Schwellung, Kalkablagerungen, Grenze zwischen Rinde und Mark stark hyperämisch und sehr derb. Von den Organen werden Niere, Leber, Darm, Muskeln und Lunge auf Hg untersucht, außerdem der Harn, der sich in der Blase findet.

Nieren +++, Leber +, Darm Spur, Muskeln äußerst geringe Spur, Lunge äußerst geringe Spur.

Harn in der Blase 0.

Für Kaninchen von ca. 2 kg Gewicht ist bei subcutaner Einspritzung die tödliche Dosis etwa 0,02 g Hg. Intravenös variiert die tödliche Dosis. Mehr als einige Milligramm werden meist nicht vertragen.

6. Versuche mit komplexen anorganischen Hg-Salzen.

a) Rattenversuche.

Versuch 1.

13. XI. 1912. Zwei Ratten erhalten von einer Lösung Quecksilberkaliumnitrit (0,1 : 10,0) 2 mg und 4 mg subcutan. Die Tiere bleiben gesund.

Versuch 2.

Zwei Ratten erhalten von einer Lösung von Quecksilberkaliumnitrit 0,1 : 10,0 3 resp. 8 mg. Die Tiere bleiben gesund.

Versuch 3.

28. XI. 1912. Zwei Ratten erhalten 0,01 g und 0,012 g Quecksilberkaliumnitrit subcutan. Am 2. XII. sind beide tot. Bei der Sektion zeigen sich Kalkablagerungen in der Niere.

Organuntersuchung ergibt: Ratte Nr. 1: Darm +, Leber +, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln 0. Ratte Nr. 2: Darm deutliche Spur, Leber +, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln 0.

Versuch 4.

9. XII. 1912. Zwei Ratten erhalten 8 mg und 1 cg Quecksilberkaliumnitrit subcutan. Am 10. sind beide krank, am 13. ist Tier Nr. 2 tot, am 14. Tier Nr. 1.

Versuch 5.

16. XII. 1912. Zwei Ratten erhalten 8 mg Quecksilberkaliumnitrit subcutan. Am 21. stirbt das eine Tier, das andere bleibt dauernd gesund.

Zirka 8 mg ist die tödliche Dosis für eine Ratte von ca. 70 g.

b) An Kaninchen.

Versuch 1.

9. XII. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält 5 cg Quecksilberkaliumnitrit in 5 ccm Wasser gelöst subcutan. Das Tier lebt vom 10. bis 13. XII., ohne in dieser Zeit Harn zu lassen. Am 13. stirbt es. Bei der Sektion finden sich Hämorrhagien im Darm, außerdem ist Ascitesflüssigkeit vorhanden. Die Untersuchung auf Hg ergibt: Darm +++, Leber +++, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln sehr geringe Spur.

Versuch 2.

16. XII. 1912. Ein Kaninchen von 2980 g erhält 3 cg Quecksilberkaliumnitrit subcutan.

Am 17.	sind	155 ccm	Harn	vorhanden,	Hg	+++
„ 18.	„	130 „	„	„	„	++
„ 19.	„	310 „	„	„	„	+
„ 20.	ist	reichlich	„	„	„	+
„ 21.	sind	270 ccm	„	„		

Am 2. I. 1913 finden sich ca. 50 ccm Harn, der noch deutliche Spuren Quecksilber zeigt; das Tier ist krank und stirbt bald darauf.

Versuch 3.

7. I. 1913. Ein Kaninchen von 2030 g erhält 3 cg Quecksilberkaliumnitrit subcutan.

Am 8. finden sich 70 ccm Harn,
„ 9. ist kein Harn vorhanden,
„ 10. finden sich 160 ccm Harn,
„ 11. „ „ 70 „ „
„ 13. ist das Tier tot.

Versuch 4.

13. I. 1913. Ein Kaninchen von 1480 g erhält 2 cg Quecksilberkaliumnitrit subcutan.

Am 14. sind 30 ccm Harn vorhanden, dunkle Farbe,
„ 15. „ 110 „ „ „
„ 16. „ 270 „ „ „
„ 17. „ 185 „ „ „
„ 18. „ 320 „ „ „
„ 19. und 20. „ 560 „ „ „
„ 21. „ 90 „ „ „ , dunkle Farbe,
„ 22. „ 210 „ „ „

Von da an scheinen die Tiere gesund zu sein.

7. Versuche mit komplexen organischen Hg-Salzen.

a) Rattenversuche.

Versuch 1.

16. XII. 1912. Zwei Ratten erhalten 4 und 6 mg Quecksilberkaliumrhodanid. Am 18. scheinen die Tiere krank, am 20. sind beide tot.

Versuch 2.

7. I. 1913. Drei Ratten erhalten von einer Lösung von Quecksilberkaliumrhodanid (0,1 : 10,0) 6 mg, 8 mg und 1 cg subcutan. Am 9. sind zwei von den Tieren gestorben, am 13. stirbt auch das dritte.

Die Organuntersuchung ergibt: Nr. 1: Leber ++, Darm äußerst geringe Spur, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln sehr geringe Spur. Bei der Sektion war die Niere sehr blaß, sonst war nichts Besonderes zu konstatieren.

Versuch 3.

13. I. 1913. Zwei Ratten erhalten 6 resp. 8 mg Quecksilberkaliumrhodanid subcutan.

Am 15. stirbt Nr. 1, am 17. Nr. 2. Von dem zweiten Tier werden Darm und Muskeln auf Hg untersucht, Darm äußerst geringe Spuren, Muskeln 0.

Versuch 4.

17. I. 1913. Zwei Ratten erhalten 4 und 6 mg Quecksilberkaliumrhodanid subcutan. Die Tiere sind am 20. beide tot.

Versuch 5.

26. III. 1913. Drei Ratten erhalten eine Lösung dieses Salzes subcutan injiziert, und zwar 1, 2 und 3 mg.

Am 27. ist das Tier, das 1 mg erhalten hat, tot. Die beiden anderen leben, jedoch scheint das Tier, das 3 mg erhalten hat, krank zu sein.

Am 28. leben die Tiere, am 29. stirbt das Tier, welches 3 mg erhielt; am 31. ist das Tier, das 2 mg erhalten hat, tot.

b) Versuche an Kaninchen.

Versuch 1.

13. I. 1913. Ein Kaninchen von 2030 g erhält 2 ccm = 0,02 g Quecksilberkaliumrhodanid subcutan.

Am 14.	sind	30 ccm	Harn	vorhanden	von dunkler Farbe
„ 15.	„	150 „	„	„	, Hg ++
„ 16.	„	320 „	„	„	, „ +
„ 17.	„	300 „	„	„	
„ 18.	„	140 „	„	„	
„ 19. und 20.	„	70 „	„	„	

Am 21. ist das Tier tot. Die Sektion ergibt: Peritonitis, starke Hyperämien in den Nieren.

Zirka 2 cg ist die tödliche Dosis für ein Kaninchen von 2 kg.

Diese Versuche zeigen, daß sowohl das Quecksilberkaliumnitrit, wie auch das Quecksilberkaliumrhodanid, also zwei komplexe Quecksilbersalze, weniger giftig sind als die anderen von uns untersuchten Quecksilbersalze. Aber sie sind verhältnismäßig giftiger als die von uns untersuchten aromatischen Quecksilberverbindungen. Von den Salzen ist relativ wenig giftig das Sublimat und vor allem das Kalomel. Die geringere Giftigkeit des Sublimats beruht wohl darauf, daß dasselbe im Organismus mit Eiweiß Verbindungen eingeht, die von dem Organismus dann besser toleriert werden.

Sehr auffällig ist die geringe Giftigkeit des Kalomels bei kleinen Tieren. Man kann Kaninchen und Ratten mehrere Dezigramm einführen, ohne daß die Tiere sterben. Die Resultate sind aber sehr inkonstant. Offenbar hängt dies von der schweren Resorption des Kalomels ab. Wird von der Injektionsstelle aus, wo sich das Kalomeldepot bildet, nur langsam Hg resorbiert, so kann das Tier leben bleiben, kommt es aber durch irgendeinen Umstand zu einer plötzlichen stärkeren Resorption von Quecksilber, so geht das Tier zugrunde, manch-

mal erst nach Wochen. Dieser Umstand ist es wohl, der das Kalomel beim Menschen als ein im großen und ganzen giftiges Präparat erscheinen läßt, denn hier können wir selbstverständlich nicht das Risiko auf uns nehmen, das mit der Einverleibung großer Dosen verbunden ist. Solange wir nicht die Resorptionsfähigkeit im Organismus beherrschen, können wir ihm nur solche Dosen einverleiben, die unter keinen Umständen toxische Erscheinungen hervorrufen. Immerhin sind die Mengen Quecksilber, die man ohne Lebensgefahr beim Menschen einführen kann, 0,1 g Kalomel = 0,085 g Hg ziemlich bedeutende, wenn wir sie vergleichen mit derjenigen Menge, die man bei der Sublimatkur mit einer Dosis anwendet. Die höchste angewandte Sublimatdosis ist beim Menschen 0,02 g, jeden zweiten Tag. Wir geben also, da Sublimat 75% Quecksilber enthält, 0,015 g Quecksilber pro dosi, also mit drei Sublimatspritzen pro Woche 0,045 g. Man bringt somit mit einer ganzen Kalomelspritze fast doppelt soviel Hg wöchentlich in den Körper, wie mit Sublimat. Noch geringer sind die Quecksilberdosen, die wir mit den Quecksilbersalzen organischer Säuren, Hydrargyrum oxycyanatum, succimidatum, dem Organismus zuführen, und wenn wir die Resultate der Tierexperimente auf den Menschen übertragen dürfen, so ergibt sich, daß pro dosi nur wenige Milligramm bzw. Bruchteile eines Milligramms Quecksilber auf einmal in den Organismus gebracht werden können. Wenn wir also die geringen Mengen, die pro Woche bei den Quecksilbersalzen gegeben werden, vergleichen mit der einzelnen Dosis Kalomel, die aber gleichzeitig die Dosis pro Woche ist, so kommen wir zu dem Ergebnisse, daß die Überlegenheit des Kalomels vor anderen Hg-Salzen lediglich darauf beruht, daß es uns gestattet, auf einmal erheblich mehr Hg in den Körper zu bringen.

Gleichmäßig zeigt sich bei allen untersuchten Hg-Verbindungen ohne Unterschied der Konstitution, daß als Ausscheidungsorgane im Tierversuch die Nieren und der Darm in Betracht kommen, ferner sind diese beiden Organe der Hauptsitz der anatomischen Veränderungen, die das Quecksilber hervorruft. Was die Nieren anbelangt, so sind sie häufig der Sitz von Blutungen. Charakteristisch ist die Hyperämie der Mark-

und Rindengrenzschicht, aber nicht immer. Es kommt auch zu einer einfachen trüben Schwellung oder zu einer auffallenden Anämie der Gesamtniere. Beim Quecksilberatoxyl insbesondere haben wir sehr blasse Nieren bei Kaninchen gesehen, obwohl das Arsen sonst starke hämorrhagische Entzündungen hervorruft. Es handelt sich eben beim Quecksilberatoxyl um eine reine Hg-Vergiftung. Durch den Eintritt der Hg-Komponente wird das Präparat bereits in so kleiner Dosis giftig, daß seine Arsenkomponente sich noch nicht toxikologisch bemerkbar macht. Konstant dagegen ist die Ablagerung von Kalk in der Rindenmarksubstanz, die schon makroskopisch sichtbar ist. In bezug auf die einzelnen Arten der Hg-Verbindungen haben wir den Eindruck, daß Quecksilbersalze weit mehr die hämorrhagischen Entzündungen hervorrufen, als die aromatischen Quecksilberverbindungen. Ganz besonders ist im Tierexperiment das Auftreten der Anurie auffällig, wenn man eine tödliche Dosis gewählt hat. Das Versiegen der Urinmenge ist daher ein sehr frühzeitiger Indicator für das Einsetzen schwerer Intoxikationen. Ebenso frühzeitig wird der Darm affiziert. Daselbst kommt es gleichfalls zu Hyperämien, Blutungen und schweren diphtherischen Veränderungen. Der klinische Befund eines mit Quecksilber vergifteten Tieres ist Durchfall, Schleim und Blut in den Faeces, Oligurie bzw. Anurie. Diese Erscheinungen treten sehr frühzeitig auf. Wenn wir beim Kaninchen nach der Einverleibung des Präparats am nächsten Tage weder Durchfall noch eine sehr wesentliche Verminderung der Urinmenge beobachten, so können wir sicher sein, daß wir keine toxische Dosis gegeben haben. Kleine Dosen Hg wirken beim gesunden Kaninchen stark diuretisch.

Über das Verhalten einiger Bakterienarten gegenüber d-Glucosamin.

Von

Kurt Meyer.

(Aus dem serobakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin.)

(Eingegangen am 15. Oktober 1913.)

Die vor kurzem erschienene Mitteilung von Abderhalden und Fodor[1]) über den Abbau von d-Glucosamin durch Bakterien veranlaßt mich, kurz über einige schon vor längerer Zeit angestellte, jetzt noch einmal überprüfte Versuche zu berichten, die das Verhalten verschiedener Bakterienarten gegenüber d-Glucosamin hinsichtlich der Säurebildung zum Gegenstand hatten und in erster Linie unter dem Gesichtspunkt differentialdiagnostischer Verwertung angestellt wurden.

Bei den Versuchen wurde ein modifizierter Barsiekow-Nährboden von folgender Zusammensetzung verwendet. 1 g Casein Hammarsten wurde in 90 ccm $^n/_{10}$-NaOH gelöst, mit Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung versetzt und mit HCl bis zur fast neutralen Reaktion versetzt. Die Lösung wurde in Gärungskölbchen sterilisiert. Der gleichzeitige Zusatz von Glucosamin verbot sich, weil dieses bei alkalischer Reaktion beim Erhitzen zersetzt wird. Es wurde daher eine $10\,^0/_0$ige Lösung des Chlorhydrats für sich sterilisiert und im Verhältnis 1:10 der Caseinlösung zugesetzt. Die beimpften Nährböden wurden bei 37^0 gehalten. Das in der nachfolgenden Tabelle wiedergegebene Ergebnis wurde nach 3 Tagen abgelesen. Es änderte sich weiterhin nicht mehr, nur wurde bei Typhus und Paratyphus A das Casein allmählich völlig ausgefällt.

---

[1]) Abderhalden und Fodor, Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 240, 1913.

Tabelle.

	Säure-bildung	Gas-bildung
Staphylococcus aureus . . .	±	–
Streptococcus haemolyticus .	?	–
Typhus	+	–
Paratyphus A	+	–
Paratyphus B	++	+
Mäusetyphus	++	+
Enteritidis	++	+
Coli	++	+
Dysenterie Shiga-Kruse . .	–	–
Dysenterie Flexner	++	–
Dysenterie y	++	–
Friedländer	++	+
Pyocyaneus	+	–
Proteus	±	–
Mesentericus	–	–
Soor	–	–
Sporothrichum	?	–

Zur Erläuterung der Tabelle sei noch bemerkt, daß ± leichte Rötung, + Rötung und Trübung des Nährbodens durch ausfallendes Casein, ++ vollständige Ausfällung des Caseins und Farbstoffs bedeutet.

Von Typhus, Paratyphus B und Coli wurden mehrere Stämme mit gleichem Ergebnis untersucht.

Bei den Typhuskulturen trat die Trübung des Nährbodens erst am 3. Tage ein.

Wo Gasbildung beobachtet wurde, erfolgte sie nur langsam und in ziemlich geringer Menge.

Das Ergebnis der Versuche wäre dahin zusammenzufassen, daß die verschiedene Aktivität der einzelnen Bakterienarten gegenüber Kohlenhydraten im allgemeinen auch gegenüber dem Glucosamin zur Geltung kommt. In der Hauptsache zeigt sich das gleiche Verhalten wie gegenüber Traubenzucker. Bemerkenswert ist vielleicht die wesentlich stärkere Aktivität von Dysenterie Flexner und y im Vergleich zu Typhus. Differentialdiagnostisch verwertbare Unterschiede haben sich nicht ergeben.

Die chemischen Vorgänge bei der Säure- und Gasbildung wurden nicht näher untersucht. Es muß daher dahingestellt bleiben, ob der Säurebildung eine Desaminierung vorausgeht.

Mit einigen Worten möchte ich noch zu den Versuchen von Abderhalden und Fodor Stellung nehmen, die die Bildung von Propionsäure und d-Milchsäure aus Glucosamin unter der Einwirkung eines Fäulnisgemisches, aus dem als einziges Bakterium ein Vertreter der Subtilisgruppe isoliert wurde, nachgewiesen zu haben glauben.

Zunächst geht aus ihren Angaben nicht hervor, ob die Digestionsflüssigkeit auch auf anaerobe Bakterien untersucht wurde. Aber selbst wenn dies der Fall wäre, scheint mir das negative Kulturergebnis das Fehlen von Anaerobiern nicht sicher zu beweisen, da deren kultureller Nachweis neben einer Subtilisart auf Schwierigkeiten stoßen könnte. Gerade weil eine Desaminierung in Frage kommt, wäre die Rolle von Anaerobiern nicht ohne Bedeutung.

Sodann lassen Abderhalden und Fodor die Möglichkeit unberücksichtigt, daß ein Teil der Säuren, vor allem die Milchsäure, aus dem Traubenzucker gebildet war, den sie der Versuchsflüssigkeit aus nicht ersichtlichen Gründen zugesetzt hatten. Auch die Aminosäuren des Peptons kämen als Quelle der Säuren in Betracht.

Für die Frage der bakteriellen Zersetzung des Glucosamins sind die Versuche der Autoren nur mit Einschränkung verwertbar.

Über die Mikromethode der Blutzuckerbestimmung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 17. Oktober 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Vor einiger Zeit habe ich[1]) ein Verfahren zur Mikrobestimmung von Blutbestandteilen, darunter auch Blutzucker, veröffentlicht. Im Laufe der Zeit habe ich diese Methode in verschiedenen Richtungen weiter untersucht und möchte im folgenden die Ergebnisse mitteilen. Als das wichtigste Resultat möchte ich verschiedene Verbesserungen der Methodik bezeichnen, wodurch das Verfahren sowohl einfacher wie auch genauer geworden ist.

Nach meiner ursprünglichen Methode wurden etwa 100 mg Blut in ein Papierstückchen aufgesaugt, das mittels einer Torsionswage vor- und nachher gewogen wurde. Nach Überführung derselben in ein Proberöhrchen wurden 7 ccm mit Essigsäure versetzte KCl-Lösung kochend heiß zugefügt, wodurch das Eiweiß in dem Papier koagulierte, während der Zucker in die umgebende Lösung ausdiffundierte. Nach $^1/_2$ Stunde wurde die Flüssigkeit in einen kleinen Kochkolben von Jenaglas übergeführt, es wurde mit 4 ccm KCl-Lösung nachgespült und diese Lösung mit der ersten vereinigt. Schließlich wurden 3 ccm einer Kupferlösung (4,4 g $CuSO_4 . 5H_2O$ + 160 g $KHCO_3$ + 100 g K_2CO_3 + 66 g KCl zu 1 l dest. Wasser ergänzt) zugefügt und nach dem Kochen während 2 Minuten und nach folgender Abkühlung das reduzierte Kupferoxyd jodometrisch bestimmt.

---

[1]) Bang, Der Blutzucker, Wiesbaden 1913; diese Zeitschr. **49**, 19, 1913.

Die erste Veränderung betrifft die Kupferlösung. Zwar wird fortwährend dieselbe Kupferstammlösung verwendet. Dagegen wird die Quantität derselben auf 1 ccm gegen 3 ccm vorher vermindert. Hierdurch erzielt man, daß die kupferhaltige Reduktionsflüssigkeit nur schwach blaugrün gefärbt erscheint, und der Farbenumschlag durch Jodstärke tritt demzufolge schärfer hervor, ebenso wie der Endpunkt der Titration exakter fixiert werden kann, besonders wenn man die Konzentration der Jodlösung entsprechend verändert (hierüber Näheres unten).

Es ist aber klar, daß man bei Verwendung von nur 1 ccm Kupferlösung bedeutend weniger Zucker bestimmen kann. Dies Verhältnis ist jedoch für die praktische Blutzuckerbestimmung ohne Belang. Das Blut enthält nur ganz ausnahmsweise mehr als 0,3% Zucker, und wenn man durch 3 ccm Kupferlösung bis etwa 2,5 mg Zucker bestimmt, kommt eine solche Zuckerquantität niemals in Betracht. Es ist auch klar, daß ein Drittel dieser Quantität oder ca. 0,8 mg Zucker sogar reichlich genügt. Selbst wenn man 150 mg Blut für die Bestimmung zu verwenden wünscht, kann man doch bis zu 0,5% Blutzucker bestimmen! Und sollte bisweilen mehr Zucker vorliegen, wäre es eine einfache Sache, entweder mehr Kupferlösung oder weniger Blut zu verwenden. Praktisch dürfte aber diese Eventualität nur äußerst selten vorkommen.

Bei dieser Überlegung bin ich aber stillschweigend davon ausgegangen, daß die zu bestimmende Zuckerquantität sich proportionell der Kupfermenge verhält. Dies ist nun a priori gar nicht ausgemacht, besonders wenn man, wie oben vorgeschlagen, auch die Menge der Alkalicarbonate entsprechend vermindert. Das Experiment kann allein hierüber entscheiden.

Tabelle I.

Zuckermenge	1 ccm Kupferlösung + 13 ccm Salzlösung	3 ccm Kupferlösung + 11 ccm Salzlösung
0,10	0,27 ccm $^n/_{100}$-Jodlösg.	0,26 ccm $^n/_{100}$-Jodlösg.
0,20	0,48 „ „	0,47 „ „
0,30	0,71 „ „	0,69 „ „
0,40	0,91 „ „	0,91 „ „
0,50	1,12 „ „	1,12 „ „
0,60	1,34 „ „	1,34 „ „
0,70	1,51 „ „	1,56 „ „
0,80	1,78 „ „	1,78 „ „

Aus den obigen Versuchen wird gefolgert: Die Kupferreduktion durch Zucker ist innerhalb der obigen Grenzen, die allein in Betracht kommen, unabhängig von der Kupfer- und Alkalicarbonatkonzentration. In Übereinstimmung hiermit kann man bei Verwendung von 1 ccm Kupferlösung 3 mal weniger Zucker als bei 3 ccm bestimmen, ebenso wie die für 3 ccm Kupferlösung empirisch gefundene Reduktionstabelle auch für 1 ccm Kupferlösung stimmt. Man kann folglich nach Belieben die Kupferlösung innerhalb dieser Grenzen variieren.

Kann man also die Verwendung von 1 ccm Kupferlösung für die Bestimmung reiner Zuckerlösungen als einen Vorteil bezeichnen, so bleibt noch zu untersuchen, inwieweit die Verbesserung bei Blutzuckerbestimmungen brauchbar ist. Für eine oberflächliche Betrachtung könnte dies als selbstverständlich angesehen werden, es ist aber daran zu erinnern, daß man zur Koagulation des Bluteiweißes eine essigsäurehaltige Salzlösung verwendet, und zwar 3 Tropfen 40%iger Essigsäure zu den 7 ccm KCl-Lösung. Hierdurch wird aber ein gewisser Teil der Alkalien neutralisiert. Und versetzt man nun die Mischung von 1 ccm Kupferlösung und 13 ccm Salzlösung mit 2, 3 oder 4 Tropfen Essigsäure, so erhält man tatsächlich ganz falsche Jodwerte, z. B. für 0,10 mg Zucker 0,13 ccm Jodlösung statt 0,26 ccm. Zur Beseitigung dieser Fehlerquelle habe ich nicht den Alkaligehalt vermehrt, sondern umgekehrt die Säuremenge vermindert. Wenn man statt Essigsäure Salzsäure verwendet, kann man die Quantität davon bis zu 2,5 mg für 13 ccm vermindern und erzielt dessenungeachtet eine exakte Koagulation des Eiweißes in dem Papier, und die zugesetzte Salzlösung bleibt wasserklar. Auf der anderen Seite kann man sogar mehr als 5 mg Salzsäure zusetzen, ohne daß die Jodwerte davon berührt werden, was man auch erwarten konnte, da die Alkalicarbonatmenge für 1 ccm Kupferlösung 260 mg sind. 4 Tropfen 40%ige Essigsäure entsprechen dagegen 50 mg.

Da man weiter jetzt 13 ccm statt 11 ccm Salzlösung verwenden soll, hat es sich vorteilhaft erwiesen, statt wie früher 7 ccm + 4 ccm nun 6,5 ccm + 6,5 ccm Salzlösung zum Papier zu setzen, welche Salzlösung in 13 ccm 5 mg Salzsäure enthält. Zu dem Zwecke stellt man am besten eine größere Quantität der Salzlösung dar: 1360 ccm gesättigter KCl-Lösung

+ 640 ccm Wasser + 1,5 ccm 25 %ige Salzsäure. Diese Mischung wird in eine mit Hebervorrichtung versehenen 2-l-Flasche übergeführt. Zur Abmessung benutzt man ein mit einer Marke für 6,5 ccm versehenes Proberöhrchen, in dem auch die Salzlösung aufgekocht wird. Wenn die Kupferlösung aus einer Bürette abgemessen wird, gehen sämtliche Vorbereitungen für die Titration bedeutend schneller als vorher.

Nach dem Kochen, während der Abkühlung der Kupfersalzlösung, ebenso wie während der Jodtitrierung muß die Luftoxydation verhindert werden. Bei der Titration geschieht dies durch Zuleitung von Kohlensäure, während der Abkühlung durch den Hillschen Klemmer, der sich bewährt hat. Nach einiger Zeit wird er jedoch unsicher, und man verliert dadurch bisweilen eine Analyse (nach meinen Erfahrungen oft die wichtigste!). Ich habe deswegen hier eine wesentliche Verbesserung eingeführt, indem Herr Lindelöf, Lund, nach meinen Angaben eine modifizierte Plansche Pinzette, die sowohl den Kolbenhals festhält wie den Gummischlauch sicher zuschließt, verfertigt (vgl. Fig. 1). Die Pinzette wird einige Sekunden vorher um den Kolbenhals gesetzt, nach vollen zwei Minuten kneift man zu und kühlt gleich ab[1]). In einer kürzlich erschienenen Abhandlung haben Hirsch und Reinbach[2]) einen durchbohrten Gummistopfen vorgeschlagen. Nach meiner Erfahrung sind Gummistopfen sehr unsicher, man erhält oft unrichtige Werte, da ein wenig Luft zwischen Gummi und Glas hindurchgeht.

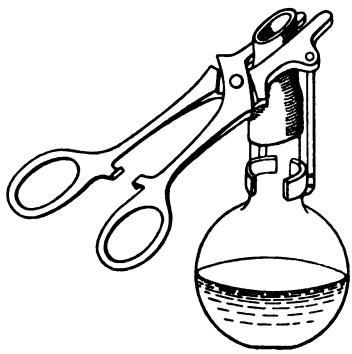


Fig. 1.

In meiner ersten Mitteilung habe ich die Verwendung von $^n/_{100}$-Jodlösung befürwortet, obwohl auch $^n/_{200}$-Jodlösung brauch-

[1]) Die Pinzette ist bei Grave in Stockholm oder Warmbrunn, Quilitz & Co. in Berlin zu beziehen, die auch die ganze Apparatur liefern.

[2]) Hirsch und Reinbach, Zeitschr. f. physiol. Chem. 86, 124, 1913.

bar ist. Nachdem die Kupfermenge jetzt bedeutend reduziert worden ist, stellt sich die Sache etwas anders, indem nun $^n/_{200}$-Jodlösung einen ebenso genügend scharfen Umschlag auf einen Tropfen gibt als die $^n/_{100}$-Jodlösung vorher[1]).

Die $^n/_{200}$-Jodlösung wird aus 5 ccm $^n/_{10}$-HCl, ca. 1 bis 2 ccm 2%ige KJO_3-Lösung, ca. 2 g JK und Ergänzung mit Wasser bis 100 ccm bereitet. Diese Lösung ist im Winter mehrere Tage haltbar, im Sommer ist der Titer dagegen schon nach 24 Stunden stark verändert. Ebenso verhält sich die $^n/_{100}$-Jodlösung.

Da weiter in beiden Fällen — $^n/_{100}$- und $^n/_{200}$-Jodlösung — ein Tropfen den Umschlag bewirkt, wird bei Verwendung der Mikrobürette der Titrationsfehler jetzt um 50% geringer als vorher oder etwa 0,005 mg Zucker gegen 0,01 mg früher. Bei Präzisionsarbeit ist der Fehler gewöhnlich geringer. Da nun 0,01 mg Zucker 0,04 ccm $^n/_{200}$-Jodlösung entspricht, ist es gut möglich zwischen diesen Werten zu unterscheiden, wie z. B. die folgenden Werte zeigen können.

Tabelle II.

Angewandte Zuckermenge mg	$^n/_{200}$-Jodlösung verbraucht ccm
0,09	0,49
0,10	0,52—0,52—0,53
0,11	0,56
0,12	0,60—0,60

Es ist aber klar, daß man bei solchen Präzionsbestimmungen (von 1‰ Zuckerlösungen) über exakte Differentialpipetten (am besten mit fein ausgezogener Spitze) verfügen muß. Ebenfalls erfordern die Abmessungen usw. eine gewisse Übung (z. B. darf man nicht vergessen, bei der Überführung der Zuckerlösung in den Kolben zuerst die Pipette von der anhängenden Flüssigkeit zu befreien). Eine besondere Aufmerksamkeit erfordert die Gasflamme, indem bis zum beginnenden Kochen 1 Min. 30 Sek.

[1]) Daß aber die Jodstärkefärbung bei Verwendung von $^n/_{100}$-Jodlösung mehr intensiv blau pro Tropfen auftritt, ist selbstverständlich.

vergehen muß (5 Sekunden mehr oder weniger sind erlaubt). Nun ist aber — jedenfalls im hiesigen Laboratorium — der Gasdruck bei bestimmten Tageszeiten (am Abend) sehr variabel — im Laufe von einigen Minuten kann man Variationen von 1'30" bis 2'30" oder umgekehrt bis 50" finden —, weshalb man sich immer hierüber orientieren muß. Man lernt bald diesen „kritischen" Zeitmoment kennen.

Schließlich hat man bei Verwendung von $^n/_{200}$-Jodlösung das Verhältnis mehr als vorher zu berücksichtigen, daß in der Nähe des Umschlagspunktes eine anfänglich positive Jodstärkereaktion nach ein paar Sekunden zurückgeht. Man titriert aber immer bis zu bleibendem Farbenumschlag. (Erst nach 30 bis 60 Sekunden darf die Färbung verschwinden.) Titriert man aber langsam — was man dank der Kohlensäure sehr gut kann —, so braucht man auf dies Verhältnis nicht zu achten.

Unter Berücksichtigung der obigen Verhältnisse und bei einer geringen Übung erhält man immer vorzügliche Resultate. Man kann demzufolge nach meiner Ansicht das Verfahren als eine Präzisionsmethode bezeichnen, die zudem bequem ist und wenig Zeit fordert.

Bei der Verwendung von $^n/_{200}$-Jodlösung machen sich einige kleine Unterschiede gegenüber $^n/_{100}$-Jodlösung geltend:

1. Bei Titration einer reinen Kupfer-Salzlösung werden sowohl von $^n/_{100}$- wie von $^n/_{200}$-Jodlösung 0,06 ccm verbraucht. Die Ursache hiervon habe ich nicht verfolgt.

2. Bei Titration einer Blindanalyse, die 2 Minuten gekocht worden ist, findet man bei $^n/_{100}$-Jodlösung dieselben Werte wie ohne Kochen (0,06 ccm) bei Verwendung von $^n/_{200}$-Jodlösung aber statt 0,06 ccm 0,16 ccm Jodlösung. Dieser Unterschied kommt selbstverständlich immer vor, wird aber bei Verwendung von $^n/_{100}$-Jodlösung maskiert. 0,16 ccm $^n/_{200}$-Jodlösung ist nämlich gleich 0,08 ccm $^n/_{100}$-Jodlösung oder etwa dieselbe Quantität, die von der nicht gekochten Kupfersalzlösung verbraucht wird.

3. In noch höherem Grade als vorher macht sich bei Verwendung von $^n/_{200}$-Jodlösung die Regelmäßigkeit der Zuckerreduktion geltend. Abgesehen von den Anfangswerten 0,01 bis 0,02 mg, die überhaupt nicht exakt bestimmt werden

können, weil der Unterschied gegenüber den Blindwerten zu klein ist, findet man überall für 0,01 mg Zucker 0,04 ccm Jodlösung. Die folgende Tabelle über die empirisch gefundenen Werte kann dies Verhältnis illustrieren. Die gefundenen Jodwerte, von 0,12 subtrahiert und mit 4 dividiert, liefern die gesuchten Zuckerwerte: $(a - 12) : 4 = x$, z.B. $(2{,}12 - 12) : 4 = 0{,}5$ mg Zucker oder $(0{,}28 - 0{,}12) : 4 = 0{,}04$ mg Zucker.

Tabelle III.

Zucker mg	Gefundene Produkte ccm	Berechnete Jodwerte (a) $(a - 12) : 4$ ccm
(0,00)	(0,16 0,16)	
(0,02)	(0,18 0,17)	—
0,04	0,28 0,27	0,28
0,05	0,32 0,33	0,32
0,07	0,40 0,40 0,40	0,40
0,09	0,49	0,48
0,10	0,52 0,52 0,53 0,54	0,52
0,11	0,56	0,56
0,12	0,60 0,60	0,60
0,15	0,72 0,72 0,71	0,72
0,20	0,92 0,93	0,92
0,22	1,01	1,00
0,25	1,12 1,12	1,12
0,30	1,32 1,32 1,32 1,32 1,30	1,32
0,35	1,52 1,50	1,52
0,40	1,72 1,72	1,72
0,45	1,90 1,95	1,92
0,50	2,12 2,08	2,12
0,60	2,50	2,52
0,70	2,90	2,92
0,80	3,26 3,28	3,32

Das Ergebnis der Bestimmungen von reinen Zuckerlösungen beweist, daß das Mikroverfahren ein Präzisionsverfahren ist. Es liegt dann in Anbetracht seiner Einfachheit nahe zu folgern, daß diese Methode die gebräuchlichen Makromethoden für diese Zwecke mit Vorteil ersetzen kann. Insbesondere dürfte dies für die Harnzuckerbestimmungen zutreffen. Tatsächlich haben auch die Versuche an Diabetesharn ein sehr befriedigendes Resultat ergeben. Als Makromethode diente meine Methode II. Die Harne wurden vor den Bestimmungen 10mal verdünnt. Zu den Bestimmungen wurden 1 ccm bzw. 0,1 ccm Harn verwendet.

Tabelle IV.

			Makromethode		Mikromethode		
Harn	Nr. 1	Zucker gefunden	6,5%	6,5%	6,2%	6,2%	6,1%
„	„ 2	„ „	2,75%	2,75%	2,70%	2,75%	
„	„ 3	„ „	3,25%	3,30%	3,25%	3,30%	

Für den Fall, daß das Mikroverfahren für die Harnzuckerbestimmung sich einbürgern sollte, dürfte es sich vielleicht empfehlen, sich entsprechende Vollpipetten à 0,100 ccm (mit Marke für 0,050 ccm) zu verschaffen.

Zur Bestimmung des Blutzuckers sind ebenfalls einige kleine Verbesserungen eingeführt worden. Betreffs der Torsionswage haben Hartmann & Braun, Frankfurt a. M., mir eine solche von 500 mg geliefert, mit einem messerförmigen Anzeiger, der über einen Hintergrund aus Spiegelglas läuft. Hierdurch wird die Parallaxe ausgeschlossen. Man kann scharf auf 0,2 mg einstellen, was zwar für Zuckerbestimmungen überflüssig genau ist (hier genügt 1 mg), dagegen ist dies zur Bestimmung des Wassergehaltes, des Extraktiv- bzw. Totalstickstoffs vom Blut vorteilhaft. Die Wage kostet 115 M. Weiter hat es sich erwiesen, daß das von mir früher empfohlene schwedische Papier jetzt nicht den notwendigen Anforderungen entspricht, indem das koagulierte Eiweiß unvollständig zurückgehalten wird. Schließlich habe ich aber englisches Löschpapier gefunden, das in dieser Beziehung sich ganz vorzüglich bewährt hat. Allerdings gibt auch das Papier jodbindende Stoffe ab und muß also vor dem Gebrauch gereinigt werden. Solches gereinigtes Papier ist von Grave, bzw. Warmbrunn und Quilitz zu beziehen, die zudem die zugeschnittenen Papierstückchen (16 × 28 mm) liefern[1]). Diese Papierstückchen besitzen weiter sämtlich dasselbe Gewicht und ebenso die beigelegten Papierklammern. Man bestimmt demzufolge ein für allemal das Gewicht von Papier + Klammer und braucht dann später nur das mit Blut beschickte Papier zu wiegen. (Die Papierstückchen differieren höchstens um 1 mg vom Mittelwerte.)

Betreffs des Blutes bleibt schließlich die Frage noch zu

[1]) In Schachteln von 1000 Stück.

berücksichtigen, inwieweit die Mikromethode exakte Werte liefert, indem möglicherweise das Blut andere jodbindende Stoffe enthält. Diese Frage ist schon von mir früher (vgl. mein Buch: „Der Blutzucker") behandelt worden. Ich habe später die Untersuchungen hierüber fortgesetzt, indem ich den Blutzucker teils nach der Mikromethode, teils nach meiner Makromethode sowie nach Knap bzw. Fehling bestimmte. In den meisten Versuchen wurden die Mikrobestimmungen von meinem Schüler Dr. Stenstrom ausgeführt, während ich selbst die Makrobestimmungen ausführte. Die folgende Tabelle gibt die Resultate:

Tabelle V.

	Mikromethode		Makromethode	
Nr. 1 Schafblut	0,081% 0,096% 0,084%	0,087%	0,85% (Knap)	0,077% (Bang II)
Nr. 2 Rinderblut	0,087% 0,103% 0,091% 0,097%	0,095%		0,090% (Bang II)
Nr. 3 Kaninchenblut	0,074% 0,088% 0,095%	0,084%		0,070% (Fehling)
Nr. 4 Kaninchenblut	0,110%			0,095% (Bang II)

Die Mikrobestimmungen wurden nach der alten Methode ausgeführt. Für die Makrobestimmungen wurden 10 bis 60 ccm Blut mit Wasser verdünnt und mit kolloidalem Eisen gefällt.

Die angeführten Versuche zeigen, daß die Mikromethode etwa 10% höhere Werte als die Makrobestimmungen liefert oder absolut etwa 0,01 bis 0,015% Zucker mehr. Diese Ergebnisse stimmen mit dem Befunde von Hirsch und Reinbach (l. c.) gut überein, indem diese Forscher durchschnittlich nach der Mikromethode 0,125% und nach Bertrand 0,115% für Kaninchenblut fanden. Zu demselben Resultat sind Tannhäuser und Pfitzer[1]) für Menschenblut gekommen. Frägt man nach den Ursachen dieser Differenz, so ist es möglich, daß ein geringer Teil des Zuckers mit der Eiseneiweißfällung nieder-

[1]) Tannhäuser und Pfitzer, Münch. med. Wochenschr. **1913**, 2155.

geschlagen wird. Versuche von Lesser[1]) an Froschblut sprechen hierfür. Andererseits wäre denkbar, daß das Blut andere jodbindende Stoffe abgeben könnte, die eine Reduktion des Kupferoxyds vortäuschen könnten. Tatsächlich verbraucht auch die mit Blut digerierte Salzlösung ohne Kochen mit Kupferlösung etwas, obwohl nur sehr wenig, Jod, wie die folgenden Versuche erweisen. Hier wurde die Salzlösung (6,5 ccm + 6,5 ccm) mit 1 ccm Kupferlösung versetzt und gleich — ohne Kochen — mit Jod titriert. Die Jodlösung war $^n/_{200}$. Die Kupfersalzlösung an sich verbraucht 0,06 ccm Jodlösung.

Tabelle.

Nr.	Blut mg	Verbrauchte Jodlösung ccm	Nr.	Blut mg	Verbrauchte Jodlösung ccm
1	102	0,11	13	100	0,11
2	125	0,12	14	128	0,12
3	107	0,11	15	104	0,10
4	135	0,14	16	108	0,12
5	110	0,12	17	116	0,10
6	130	0,12	18	112	0,12
7	130	0,13	19	108	0,12
8	110	0,12	20	109	0,14
9	127	0,13	21	106	0,12
10	110	0,10	22	106	0,09
11	116	0,12	23	116	0,12
12	107	0,12	24	134	0,13

Aus den angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß der Jodverbrauch des Blutes 0,04 bis 0,07 ccm entspricht oder durchschnittlich 0,06 ccm. 0,06 ccm Jodlösung entsprechen aber 0,015 mg Zucker oder genau dem Mehrbetrag an Zucker, den die Mikromethode gegenüber der Makromethode liefert. Es ist dann die Möglichkeit vorhanden, durch eine Korrektursubtraktion von 0,01 bis 0,015 mg Zucker diese Differenz auszugleichen. Daß man in einem gegebenen Falle durch Feststellung des Jodverbrauches des Blutes eine solche Korrektur ausführen darf, ist wohl ganz klar. Wenn die Mikromethode ebensoviel an Mehrbetrag liefert, wie dem Jodverbrauch des

[1]) Lesser, diese Zeitschr.

Blutes entspricht, ist eine solche Folgerung berechtigt. Inwieweit man aber eine solche Korrektur ein für allemal einführen kann, hängt davon ab, ob dieser Jodverbrauch eine unveränderliche Größe darstellt. Es fragt sich dann zuerst, inwieweit der Jodverbrauch von der Höhe des Blutzuckers unabhängig ist. Dies trifft tatsächlich zu. Ein Kaninchen mit 0,11 % Blutzucker zeigte bei Adrenalinvergiftung nach einiger Zeit 0,31 % Zucker im Blute. Der Jodverbrauch war 0,10 und 0,12 ccm. Wie oben bewiesen, ist weiter der Jodverbrauch bei verschiedenen Tieren konstant.

Noch eine Möglichkeit bleibt jedoch offen. Es wäre denkbar, daß der Jodverbrauch von dem Fettgehalt des Blutes abhängig sein könnte. Da nun das Blut nach fettreicher Nahrung lipämisch wird, dürfte man hier einen vermehrten Jodverbrauch finden. Das war aber in einem Kaninchenversuch, wo das Tierchen 100 g Olivenöl per Sonde bekam, nicht der Fall. Die Ziffern waren: 120 mg = 0,11 ccm Jodlösung und 114 mg = 0,10 ccm vorher. Nach $^1/_2$ Stunde 112 mg = 0,10 ccm; nach 1 Stunde 120 mg = 0,10 ccm; nach $1^1/_2$ Stunde 121 mg = 0,10 ccm; nach 2 Stunden 110 mg = 0,09 ccm; nach 3 Stunden 122 mg = 0,11 ccm; nach 4 Stunden 103 mg = 0,09 ccm; nach 5 Stunden 112 mg = 0,10 ccm; nach 6 Stunden 116 mg = 0,10 ccm.

Für Kaninchen ist also die Folgerung berechtigt, daß der Jodverbrauch eine konstante Größe darstellt, der durchschnittlich ca. 0,01 mg Zucker entspricht. Wünscht man also den exakten Blutzuckergehalt kennen zu lernen, hat man von dem gefundenen Blutzuckergehalt 0,01 mg 0,015 mg abzuziehen — gleichgültig ob dieser Gehalt größer oder geringer ist.

Gehen wir zu der viel wichtigeren Frage, wie dies Verhältnis sich beim Menschen gestaltet, so habe ich aus äußeren Gründen selbst keine Versuche hierüber anstellen können. Die folgenden Versuche verdanke ich meinem Freunde Dozent af Klercker, der auf meine Aufforderung einige Untersuchungen hierüber angestellt hat. Es ist wünschenswert, daß solche Untersuchungen in größerem Maßstabe angestellt werden. Die Werte an normalen Individuen waren:

Tabelle.

	Blut mg	Jodlösung ccm	Blut ccm mg
Magenneurose	110	0,14	0,13 : 100
Polyarthritis chron. . .	125	0,15	0,12 : 100
Pleuritis, Rekonvaleszent	104	0,13	0,13 : 100
Polyarthritis chron. . .	138	0,16	0,12 : 100

Bei normalen Menschen ist folglich der Jodverbrauch nach diesen Versuchen zu beurteilen wie bei den Kaninchen und entspricht etwa 0,015 mg Zucker im Durchschnitt.

Der wahre Blutzuckergehalt des Menschen wird demnach wahrscheinlich dadurch gefunden, daß man von den gefundenen Werten der Mikromethode 0,015 % Zucker subtrahiert.

Es fragt sich dann zuletzt, wie sich das Diabetikerblut in dieser Beziehung verhält. Hierüber kann die folgende Tabelle orientieren.

Tabelle.

Nr.		Blutzucker %	Blut mg	Jodlösung ccm	Jodlösung auf 100 mg Blut berechnet
1	Leichter Diabetes	0,200	124	0,13	0,10
2	Mittelschwerer Diabetes	a) 0,156	93	0,16—0,19	0,17
	„ „	b) 0,160	—	—	—
3	„ „	0,130	88	0,12	0,13
4	Schwerer Diabetes	a) 0,205	95	0,13	0,13
	„ „	b) 0,200	—	—	—

Nr. 1 und 3 waren zuckerfrei (Nr. 3 Hungertag!). Nr. 2 bis 4 zeigten starke Acidosis (besonders Nr. 4). Die Proben a in Nr. 2 und 4 wurden nach Titration in der Kälte (1 Tropfen Stärkelösung) weiter auf Zucker verarbeitet (gekocht usw.). Wie ersichtlich, war das Ergebnis unverändert geblieben.

Als Resultat der Untersuchungen geht unzweideutig hervor, daß das Diabetikerblut entweder denselben oder nur einen unwesentlich höheren Jodverbrauch zeigt als das normale Blut. Sollte dies Ergebnis sich als ein konstantes erweisen, was zu

erwarten ist, kann man also wie beim normalen Blut durch Subtraktion von 0,015 % Zucker den wahren Blutzuckergehalt finden[1]). Daß jedenfalls das Aceton in einer Quantität bis zu 1 % des Blutes keinen Jodverbrauch aufweist, ist experimentell von mir bewiesen.

[1]) Es fragt sich dann, inwieweit man nicht in der oben erwähnten Reduktionsformel den gefundenen Mehrbetrag berücksichtigen soll. Man hat für diesen Fall statt 12 16 zu subtrahieren oder $\frac{a}{4} - 0{,}04 = x$.

Über Geschwindigkeit und Größe der Hefevermehrung in Würze.

Von

Tor Carlson.

(Aus dem Laboratorium des Nobelinstituts der K. Akademie der Wissenschaften, Stockholm.)

(Eingegangen am 20. Oktober 1913.)

Mit 3 Figuren im Text.

Einleitung.

Während die Dynamik der Alkoholgärung durch eine sehr große Anzahl von Arbeiten, wir nennen hier nur die von Euler und seinen Mitarbeitern ausgeführten, umfassend studiert worden ist, scheint der quantitative Verlauf und die Geschwindigkeit der Hefevermehrung auch nicht annähernd so allseitig und systematisch untersucht worden zu sein. Und doch ist diese letztere Frage zur Erreichung einer planmäßigen Gärungsführung, d. h. zur Erzielung einer Hefe mit bestimmten Eigenschaften unter Anwendung natürlicher Hilfsmittel, die vornehmlich in der Variierung der Hefebehandlung, der Temperatur- und Lüftungsverhältnisse zu suchen sind, von vitalem technischen Wert. Diese „Kunstgriffe" der Gärungsführung, deren Bedeutung man heute wissenschaftlich durchdringt, sind dem Praktiker zum Teil schon lange bekannt, speziell gilt dies für das älteste Gärungsgewerbe, die Brauerei.

Gleichzeitig mit der Entwicklung der Kenntnis von der Natur der Gärung sind freilich Versuche zur Erhaltung eines Begriffs von der Größe des Hefeertrages bei Anwendung verschiedener kohlen- und stickstoffhaltiger Nährmittel, wie Asparagin, Pepton, Hefewasser u. a. sowie Zusatz verschiedener Nährsalze, wie variierte Zuckerkonzentration, vorgenommen worden. Die meisten dieser Versuche, wie z. B. die von Heß,

Brown, Stern u. a.[1]), sind mit vorzugsweise zwei prinzipiellen, experimentellen Fehlerquellen behaftet. Teils ist nämlich der effektiven Verteilung der Hefe im Nährsubstrat nicht genügend Rechnung getragen worden und teils ist die Hefeernte in der Regel erst nach einer allzu langen Versuchszeit bestimmt worden. Ungenügendes Umrühren resp. Umschütteln usw. verursacht natürlich, daß die Hefe, die die vorhandenen Nährstoffe durch Diffusion aufnimmt und durch denselben Prozeß gebildete Kohlensäure, Alkohol, Glycerin u. a. abgibt, bald von einer Zone umgeben wird, die eine geringere Menge Nährmittel als die übrigen Partien der Gärungsflüssigkeit enthält, die aber gleichzeitig mehr auf die auf die Entwicklung der Hefe hemmend wirkenden Umwandlungsprodukte konzentriert ist. Bei zu langer Versuchszeit wiederum können die Resultate durch währenddessen eingetretene Autolyse oder Selbstverdauung der Zellmasse verschoben werden; in vielen Fällen dürfte auch die hauptsächlichste Vermehrung der Hefe in eben so viel Stunden wie die Versuche Tage gedauert haben ihren Abschluß erreicht haben.

Es läge ja am nächsten, die gebildete Hefemenge nach und nach während des Wachstums zu bestimmen, da man hierdurch von dem Ertrage in demselben Augenblicke Kenntnis erhielte, wo die Vermehrung im wesentlichen aufgehört hat. Dies setzt indessen das Vorhandensein einer einfachen, praktischen und zuverlässigen Analysenmethode zur quantitativen Bestimmung der Zellmasse voraus; die bisher gebräuchlichen Verfahren sind äußerst zeitraubend und mühselig, ohne dafür ein die Genauigkeit befriedigendes Resultat zu ergeben; von diesen seien nur das Zählen der oft verschieden großen Zellen sowie das Wiegen der Hefemasse nach der Abfiltrierung, ihr Waschen und Trocknen genannt. Die Methode, den Verlauf der Hefevermehrung durch Messen der Kohlensäureentwicklung zu verfolgen, ist natürlich nicht einwandfrei, da dieser physiologische Effekt kein ausschließlicher Ausdruck der Zellbildung ist. Auch das in der Technik gebräuchliche Verfahren, aus dem spezifischen Gewicht der Würze auf den Vergärungsgrad

[1]) Vgl. Literaturverzeichnis in Lafars Handbuch d. Techn. Mykologie 4.

der Zuckerarten zu schließen, kann natürlich über den Verlauf der Hefevermehrung keine exaktere Auffassung geben.

Die folgende Arbeit bezweckt, unter Beobachtung möglichst sorgfältiger Versuchsbedingungen und unter Anwendung der zuverlässigsten Bestimmungsmethoden einen grundlegenden Beitrag zur Kenntnis des Verlaufes, der Geschwindigkeit und des Ertrages der Hefevermehrung in Würze unter verschiedenen äußeren Bedingungen zu liefern.

Versuchsanordnung.

Diese Untersuchungen über die Hefevermehrung wurden in weithalsigen, mit zwei eingeschmolzenen Tuben neben dem Halse versehenen Jena-Extraktionskolben (Fassungsraum ca. $^3/_4$ l) angestellt; der eine von ihnen war zur Entnahme der Gärungsproben behufs Analyse, der andere zur Einführung von Luft resp. Sauerstoffgas bestimmt. Die Kolben wurden mit 500 ccm Würze gefüllt und in diesen rotierte ein propellerförmiger Umrührer, der eine effektive Mischung und Verteilung der Hefezellen herbeiführte. Das angewendete sterile Gas mußte, um mit Wasserdampf gesättigt zu werden, vor der Einführung steriles, destilliertes Wasser passieren. Sämtliche Glasgefäße waren in einen geräumigen Thermostat, dessen Temperatur auf 30° C ($\pm$ 0,05°) gehalten wurde, gestellt. Der Hals und die Seitentuben der Gärungskolben waren zur Verhinderung von Luftinfektion mit steriler Watte bedeckt, außerdem wurde der Kolben mit gefüllter Würze im Autoklav sterilisiert. Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Gärungsversuche sind sämtlich mit Anwendung von Würze von einer Preßhefefabrik (Stockholm) ausgeführt und bilden Proben von zwei verschiedenen Herstellungstagen. Die Würze war aus Gerstenmalz und Roggen bereitet und wies eine Konzentration von 11,8° (A) resp. 12° (B) Balling auf; der Zuckergehalt, worunter hier alles, was alkalische Kupferlösung reduziert verstanden wird, wurde auf 9,8% (A) resp. 10,1% (B), berechnet nach der Reduktionsfähigkeit bei reiner Maltose, bestimmt. Die von dem Zymotechnischen Laboratorium, Stockholm, erhaltene Hefekultur bestand aus einer typischen Oberhefe mit großen, gleichförmigen Zellen, die eine ausgeprägte Glykogenreaktion gaben; die Hefe wurde ca. 24 Stunden vor

der Überimpfung in die Versuchswürze in gehopfter Bierwürze gezüchtet. Mittels steriler Pipetten wurden 10 bis 20 ccm der Gärungsflüssigkeit nach genau festgesetzten Zeiträumen herausgenommen und in Alkalilösung von abgepaßter Konzentration laufen gelassen, wonach die vorhandene Zellmenge durch Zentrifugierung in dem unten beschriebenen Meßröhrchen volumetrisch bestimmt wurde. Es trat keine Infektion auf.

Methode zur quantitativen Bestimmung von Hefe.

Außer den oben (S. 314) angeführten Methoden zur quantitativen Bestimmung von Mikroorganismen sei hier ein von mir bei gewissen Bakterienarten angewendetes Verfahren angedeutet[1]). Durch Feststellung des Kohlen- resp. Stickstoffgehaltes der Gärflüssigkeit bei Anstellung des Versuchs sowie nach Abfiltrierung der Bakterien erhält man die in der Zellmasse befindliche Kohlenstoff- resp. Stickstoffmenge als Differenz; die Methode setzt voraus, daß die chemische Zusammensetzung der angewendeten Pilze bekannt ist und daß die entstandenen gasförmigen Produkte, in denen Kohlen- oder Stickstoff enthalten ist, wie Kohlensäure und Ammoniak, gemessen sind.

Eine bedeutend einfachere und gleichzeitig schnelle und zuverlässige Bestimmungsmethode habe ich auf Grund des Umstandes, daß die Hefe sich durch Zentrifugierung relativ leicht und quantitativ von der Nährlösung abscheiden läßt, ausgearbeitet. Bei Bestimmungen der Zellmasse während des Wachstums habe ich Toluol, Sublimat, Salicylsäure und andere Substanzen als Paralysatoren benutzt, habe aber erst mittels verdünnter Sodalösung vollständig befriedigende Resultate in bezug auf die vollständige Abscheidung der Hefe aus der Würze erhalten.

Proben der Hefeaufschlämmung wurden mit destilliertem Wasser zu einer bestimmten Konzentration verdünnt und mit so viel $1\,\%$iger Sodalösung versetzt, daß die Probe eine $^{n}/_{10}$ entsprechende Alkalität erhielt. Wendet man mehr Alkali an, so kann die Abscheidung zwar erleichtert werden, man erhält aber leicht in vielen Fällen, besonders bei relativ jungen Generationen,

[1]) Tor Carlson, Medd. fr. K. Sv. Vet.-Akad. Nobelinstitut 2, Nr. 19.

die Zellmasse nach der Zentrifugierung infolge der Plasmolyse der Zellwände in Form eines Gelees.

Die Zentrifugierung wurde in trichterförmigen, ca. 15 ccm enthaltenden Glasröhren (Fig. 1), deren zylindrischer Teil sich in einer unten zugeschmolzenen Capillarröhre von 55 bis 60 mm Länge fortsetzte, vorgenommen. Die letztere war mit möglichst großer technischer Genauigkeit in 100 Teile und mit einem Gesamtinhalt von 0,06 resp. 0,12 und 0,24 ccm kalibriert. Die Herstellung der Röhre erfordert eine gewisse Sorgfalt; so muß der trichterförmige Teil allmählich in den capillaren übergehen, sonst bleibt leicht ein Teil der Zellen an der Verbindungsstelle zurück. Ähnliche Röhren sind früher von Hamburger[1]) bei Zentrifugierung von Blutkörperchen angewendet worden. Bei richtiger Ausführung sammeln sich die Hefezellen vollständig im Capillargefäß (vgl. unten), wodurch dessen Gesamtvolumen durch direktes Ablesen an der Gradteilung der Röhre gemessen werden kann. Hierbei ist zu bemerken, daß der Grenzwert des Volumens der Zellmasse in praktisch vorkommenden Grenzen unabhängig von der Tourenzahl der Zentrifuge ist, diese Zahl aber den Zeitraum, in dem der Grenzwert erreicht wird, bestimmt. Dies geht u. a. aus der folgenden Tabelle I hervor, in der die erste Kolumne (R) die Anzahl Umdrehungen per Minute, die zweite Kolumne (V_g) das Volumen der Zellmasse und die dritte (T) die gesamte Zentrifugierungszeit (Minuten), die erforderlich ist, bevor der Grenzwert zum erstenmal abgelesen wurde, angibt. In diesem Falle sind Röhren angewendet worden, deren kalibrierter Teil 0,06 ccm hielt; die Ablesungen wurden (mittels Lupe) nach 5 Minuten Rotation gemacht. Die in Form einer Wasserturbine angeordnete und direkt an der Wasserleitung angekuppelte Zentrifuge konnte in ca. 5 Sekunden zum Stehen

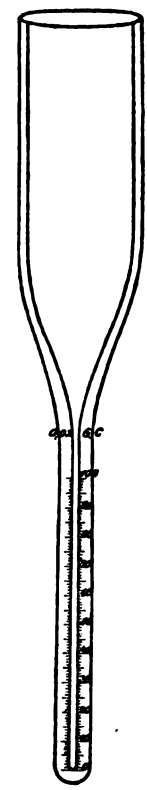


Fig. 1.

[1]) Diese Zeitschr. **1**, 259, 1906.

gebracht resp. zur vollen Umdrehungszahl angelassen werden. Während der Zeit, die jeder Zentrifugierungsversuch dauerte, variierte der Wasserdruck sehr unbedeutend; die Tourenzahl konnte mit einer Genauigkeit von $1\,^0/_0$ bestimmt werden, und durch vermehrte Belastung wurde eine verminderte Geschwindigkeit erzielt. Wenn die Volumencontraction unter $^1/_5$ Teilstrich ging, betrachtete man den Grenzwert als erreicht. Alle im folgenden mitgeteilten Hefebestimmungen bilden den mittleren Wert zweier gleichzeitig zentrifugierter Proben.

Tabelle I.

R	V_g	T
825	63,2	115
1200	63,1	50
1510	63,3	30
1860	63,0	20

Wie ersichtlich, nimmt die erforderliche Zentrifugierungszeit bedeutend mit der gesteigerten Umdrehungszahl ab; zu berücksichtigen ist, daß der Grenzwert in einer oder einigen Minuten kürzerer Zeit, als der von Kolumne (T) in Tabelle I angegebenen, erreicht sein kann, weil die Ablesungen mit 5 Minuten Zwischenraum geschahen. Bei gleicher Umdrehungszahl erhält man den Grenzwert in verschieden konzentrierten Nährmedien und in Röhren von verschiedener Weite verschieden schnell; bei der Anwendung von Röhren, deren capillarer Teil 0,24 ccm (bei 55 mm Länge) faßte, wurde der Endwert des Volumens ungefähr doppelt so schnell als mit den oben benutzten Röhren erreicht. Die Zentrifugierung darf also nicht auf eine mit Kenntnis der Umdrehungsgeschwindigkeit vorher bestimmte Zeit begrenzt werden, sondern muß in jedem Falle fortgesetzt werden, bis zwei aufeinander folgende Ablesungen eine innerhalb der gewünschten Genauigkeit fallende Differenz für den Grenzwert des Volumens gegeben haben.

Der Verlauf der Volumenzusammenziehung während der Zentrifugierung wird sehr nahe durch eine logarithmische Kurve ausgedrückt, was auch mit folgender, auf einer ganz einfachen physikalischen Voraussetzung gestützten Überlegung in Übereinstimmung steht. Die Volumenverminderung oder, wenn man so will, die Entwässerung der Hefemasse (v) muß ja in jedem Augenblick der Differenz zwischen dem schon erhaltenen (abgelesenen)

Zentrifugierungsresultate (V_a) und dem unter den betreffenden Bedingungen überhaupt erreichbaren Grenzwert (V_g) proportional sein, also ist

$$dv/dt = k(V_a - V_g),$$

wobei k eine Konstante bezeichnet.

Aber hier können wir setzen: $V_a = V_{a_0} - v$, wobei V_{a_0} die unmittelbar vorhergehende Ablesung des Volumens der Hefemasse in der kalibrierten Röhre bedeutet. Also, wenn die Differenz $(V_{a_0} - V_g)$ der Einfachheit wegen mit V bezeichnet wird:

$$dv/dt = k(V - v);$$

nach Integration erhält man:

$$k = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{V - v_1}{V - v_2}$$

oder, wenn $v_1 = 0$:

$$k = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{V}{V - v}.$$

In den untenstehenden Versuchsserien ist k nach der letzterwähnten Formel berechnet.

Tabelle II.

$R = 825$ $V = 35{,}0$

t	v	K
5	8,2	$(23) \cdot 10^{-3}$
10	11,9	18
15	15,5	17
20	18,3	16
25	21,1	16
35	26,1	17
40	27,7	17
60	31,2	16
90	32,1	(12)
		$17 \cdot 10^{-3}$

Tabelle III.

$R = 1200$ $V = 32{,}2$

t	v	R
5	11,6	$39 \cdot 10^{-3}$
10	18,5	37
15	22,2	34
25	27,9	36
40	30,2	(30)
		$37 \cdot 10^{-3}$

Tabelle IV.

$R = 1510$ $V = 30{,}3$

t	v	K
5	15,6	$63 \cdot 10^{-3}$
10	22,7	60
15	25,6	54
20	27,9	55
		$58 \cdot 10^{-3}$

Tabelle V.

$R = 1860$ $V = 26{,}8$

t	v	K
5	17,6	$93 \cdot 10^{-3}$
10	22,9	84
15	25,3	83
		$87 \cdot 10^{-3}$

Wie ersichtlich, weisen die k-Werte in den verschiedenen Versuchsserien eine relativ gute Übereinstimmung auf. Eine Zusammenstellung der erhaltenen mittleren Werte für k für die verschiedenen Umdrehungszahlen findet sich in Tab. VI.

Tabelle VI.

R	K	$R_1 : R_2$	$(R_1 : R_2)^3$	$K_1 : K_2$
825	$17 \cdot 10^{-3}$	1,00	1,00	1,00
1200	37	1,45	2,10	2,18
1510	58	1,83	3,35	3,41
1860	87	2,25	5,08	5,12

Bei einem Vergleich geht hervor, daß die k-Werte relativ schneller steigen als die Umdrehungszahlen; innerhalb des untersuchten Gebietes scheint sich die Schnelligkeit der Volumencontraction nahezu proportional dem Quadrat der Geschwindigkeitsveränderung der Zentrifuge zu erhöhen.

Der Effekt der Zentrifugierung, die Hefezellen vollständig aus der Nährlösung abzuscheiden, wurde in mehrfachen Versuchen durch Ausführung von Zellzählungen unter dem Mikroskop mit Anwendung von Zeiß' Zählkammer, teils in der gut umgeschüttelten Probe, teils in der abzentrifugierten Flüssigkeit untersucht. Die Resultate zeigen, daß, während die Zellanzahl in der ersteren nach Millionen zählte, die Menge nicht abzentrifugierter Zellen höchstens 100 bis 200 für die gleiche Volumeneinheit betrug. Diese Methode, die Hefezellen aus der Nährlösung abzuscheiden, steht somit keineswegs hinter einer effektiven Filtrierung durch Pasteur-Chamberland-Filter zurück.

Was schließlich das Trockengewicht der Zellmasse im Verhältnis zu ihrem Volumen im Capillarrohr betrifft, so wurden hierüber folgende Bestimmungen gemacht.

In zwei größeren Röhren von je ca. 60 ccm Inhalt wurde ein genau abgemessenes Volumen von 100 ccm der Hefe-

aufschlämmung zentrifugiert. Nachdem die obenstehende Würze abdekantiert war, wurde die Hefe wiederholt mit dest. Wasser gewaschen und das Waschwasser abzentrifugiert. Schließlich wurde die Hefemasse in einer Platinschale abgespült und über einem Wasserbad zu Trockenheit eingedampft, worauf sie weiter im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet wurde. Gleichzeitig wurden 10 ccm derselben Hefeaufschlämmung nach geeigneter Verdünnung in der vorher beschriebenen Meßröhre zentrifugiert. Die Resultate solcher, an Proben von verschiedenen Gärungsversuchen und variierenden Mengen ausgeführten Bestimmungen sind in Tab. VII, in der p das Trockengewicht der Hefemasse und v ihr gefundenes Gesamtvolumen bedeutet, aufgenommen.

Tabelle VII.

p	v	$100\,p/v$
0,4828 g	2,188 ccm	22,06
0,9022	4,052	22,27
1,0756	4,680	22,98
0,1672	0,746	22,41
0,5005	2,178	22,98
1,5595	6,804	22,92
1,4381	6,180	23,27
0,6790	2,920	23,25
	Mittel	22,77

Wie ersichtlich, ist das Verhältnis p/v konstant. Durch Multiplikation der nachfolgenden Versuchswerte, die direkt das abgelesene Volumen (10^{-3} ccm) der in 100 ccm Würze gebildeten Hefe angeben, mit der Zahl $22{,}77 \cdot 10^{-3}$ erhält man somit das entsprechende Trockengewicht (in Milligramm) der Zellmasse.

Vermehrungsgeschwindigkeit der Hefe.

Wo nichts anderes angegeben ist, wurden die Vermehrungsversuche mit 1 Tropfen Hefeaufschlämmung von einer höchstens 1 Tag alten Kultur in Gang gesetzt; die Größe des Ansatzes ist somit bei diesen Versuchen im Verhältnis zum Hefeertrag verschwindend klein. Der Verlauf der Zellvermehrung geht aus der Kurve in nebenstehender Fig. 2 deutlich hervor; die Ordinate bezeichnet die dort gebildete Hefemenge, und die Abszisse die Wachstumszeit. Die Kurve ist durch Werte ge-

zogen, die zwischen den direkt aus drei vollständig gleichartigen, ca. 10 bis 12 Stunden nacheinander angestellten Versuchen gefundenen ausgeglichen sind; zur Feststellung der Kurve sind zusammen ca. 150 Hefebestimmungen ausgeführt worden. Analoge Kurven wurden aus sämtlichen Hefever-

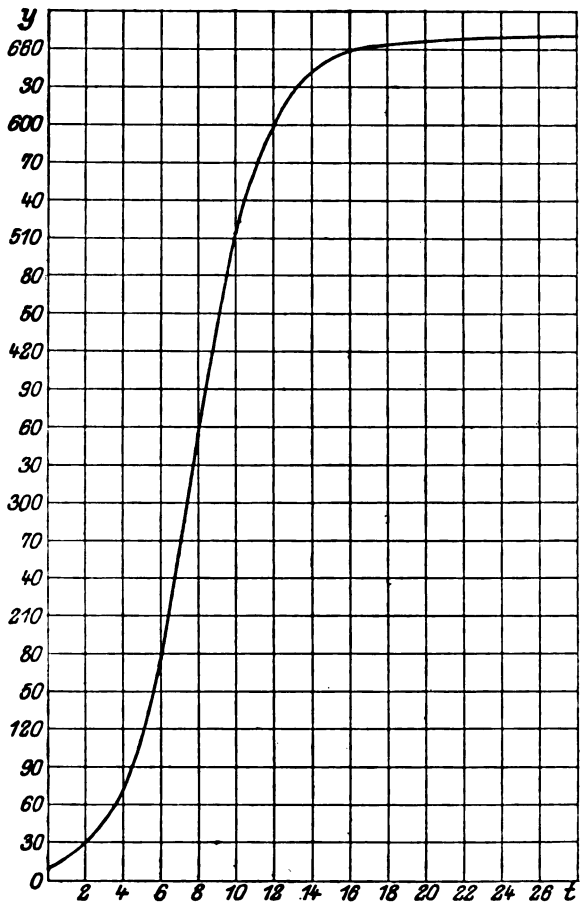


Fig. 2.

mehrungsversuchen erhalten, auch wenn die letzteren unter variierenden äußeren Verhältnissen angeordnet waren.

Zur Ableitung einer den in den Kurven ausgedrückten Zeitverlauf des Wachstums analytisch wiedergebenden Formel sei hier folgende Überlegung angewendet, die von Herrn

Prof. Sv. Arrhenius anläßlich meiner früheren Versuche[1]) über die Atmungsgeschwindigkeit von Bakterien entwickelt worden ist.

Die außerordentlich regelmäßig verlaufenden Kurven deuten in ihrem Anfang einen Gang an, der nach der Zeit etwa exponentiell verläuft. Dieser Gang ist auch natürlich, denn so lange die äußeren Umstände fast unverändert bleiben — d. h. bevor die Nahrung in merklichem Grade verbraucht ist und die vielleicht schädlichen Ausscheidungen noch gering bleiben —, ist es zu erwarten, daß jedes Individuum sich unabhängig von dem anderen vermehrt. Daraus folgt, daß, wenn die Menge der Hefezellen sich in einer Zeit a verdoppelt, sie in der Zeit $2a$ auf das Vierfache zunimmt usw., d. h. die vorhandene Menge der Hefe und damit auch ihr Verbrauch an Nährstoffen wächst anfangs wie eine Exponentialfunktion der Zeit, d. h. wenn y die Menge der gebildeten Hefe bedeutet, die als Ordinate in den Kurven eingezeichnet ist, so gilt für den Anfang:

$$dy/dt = k \cdot e^{qt},$$

worin k und q Konstanten bedeuten.

Nun kann sich natürlicherweise diese Zunahme der Hefezellen wegen eintretenden Nahrungsmangels nicht ins Unendliche fortsetzen, der Zuwachs wird allmählich langsamer, die Kurve erhält einen Inflexionspunkt und hört endlich gänzlich auf — die y-Kurve verläuft der Abszisse parallel. In den meisten Fällen beobachtet man jedoch eine fortwährende, mit der Zeit proportionale, sehr langsame Vermehrung an Hefe, die, wie unten gezeigt wird, einem sekundären Prozeß zuzuschreiben ist. Dieser Teil der Kurve wird offenbar durch eine lineäre Gleichung dargestellt, die nichts mit der Hauptgleichung zu tun hat, weshalb wir diesen Teil der Kurve hier außer acht lassen.

Es nähert sich also der y-Wert zu einem Maximum y_∞, welcher theoretisch genommen erreicht wird, sobald die disponible organische Nahrung verzehrt ist. Um diesem Rechnung zu tragen, ist es das einfachste, anzunehmen, daß der Verbrauch an Nahrung einer Potenz n von der noch vorhandenen Nahrungs-

[1]) Tor Carlson, Medd. fr. K. Vetenskapsakademiens Nobelinstitut 2, Nr. 10.

menge, die $(y_\infty - y)$, d. h. der noch zur Fortführung des Lebensprozesses bis zu seinem Ende nötigen Nahrungsmenge wenigstens in erster Annäherung proportional ist[1]). Wir erhalten auf diese Weise:

$$dy/dt = k \cdot e^{qt} (y_\infty - y)^n; \quad \ldots\ldots\ldots \quad \text{(a)}$$

oder umgeschrieben:

$$dy/(y_\infty - y)^n = k \cdot e^{qt} dt,$$

welche integriert gibt:

$$(y_\infty - y_0)^{1-n} - (y_\infty - y_1)^{1-n} = (1-n)\frac{k}{q}(e^{qt_1} - e^{qt_0}).$$

Wir wählen jetzt unsere Zeit so, daß wir $t_0 = 0$ setzen, wenn noch keine merkliche Menge von Hefe gebildet ist, also entspricht $y_0 = 0$ der Zeit $t_0 = 0$ und wir erhalten, wenn wir Logarithmen der beiden Ausdrücke nehmen:

$$\log_e \left\{ y_\infty^{1-n} - (y_\infty - y_1)^{1-n} \right\} = \log_e \frac{(1-n)k}{q} + \log_e (e^{qt_1} - 1).$$

Wir bemerken weiter, daß bei allen beobachteten Werten e^{qt} unvergleichlich viel größer ist als 1, so daß wir ohne merklichen Fehler die Ziffer 1 auf der rechten Seite vernachlässigen können. Da weiter die Zeit $(t_1 - t_0)$, wegen der Unbestimmtheit der Zeit t_0, nicht mit Genauigkeit festgestellt werden kann, sondern nur die Differenz von zwei Beobachtungszeiten t_2 und t_1 aus den Beobachtungen mit Sicherheit abzulesen ist, bilden wir den letzten Ausdruck für zwei solche Zeiten und nehmen die Differenz zwischen diesen zwei Ausdrücken. Wir erhalten auf diese Weise, indem wir zu gewöhnlichen Logarithmen übergehen:

$$\log \frac{y_\infty^{1-n} - (y_\infty - y_2)^{1-n}}{y^{1-n} - (y_\infty - y_1)^{1-n}} = \frac{q}{2{,}3026}(t_2 - t_1) \quad \ldots \quad \text{(b)}$$

Bei meinen früheren Untersuchungen[2]) über die Atmungsgeschwindigkeit gewisser Bakterien als Funktion ihrer Ver-

---

[1]) Man nimmt also an, daß der Lebensprozeß ebensowohl durch den Verbrauch von Nahrungsmitteln wie durch die gebildete Hefemenge gemessen wird, so daß diese beiden Umsätze einander proportional sind.

[2]) l. c.

mehrung habe ich die letzterwähnte Formel (b) zur Berechnung ihrer Konstanten k aus den erhaltenen Versuchsdaten angewendet. Das Resultat der Berechnungen ergab, daß der betreffende Ausdruck den Verlauf des Wachstums vollständig befriedigend wiedergibt, und daß die physikalisch-chemischen Voraussetzungen, die der Differentialgleichung oben zugrunde gelegt worden sind, wirklich die Erscheinung darstellen. Diese Erscheinung ist dadurch auf zwei einfache und sehr natürliche Prinzipien zurückgeführt. Aus der Potenz n ging hervor, daß der Wert $n = {}^2/_3$ der zur Anwendung geeignetste war, damit die Konstante innerhalb der Fehlergrenzen denselben Wert während des größten Teils des Wachstums aufweise. Hierbei ist zu bemerken, daß die Umwandlungsprodukte unmittelbar und nahezu vollständig aus der Nährflüssigkeit entfernt wurden, weshalb eine bemerkenswertere Hemmung im Wachstum aus diesem Grunde nicht stattfand. Bei der Hefevermehrung in Würze ist dies ja nicht der Fall, sondern man hat hierbei in erster Linie mit einer hemmenden Einwirkung des gebildeten Alkohols zu rechnen, weshalb man a priori annehmen kann, daß, falls die Formel den betreffenden Verlauf befriedigend wiedergeben soll, ein höherer Wert von n zur Anwendung kommen muß.

Was den Wert von y_∞, der in jeder der folgenden Versuchsserien zur Berechnung der Geschwindigkeitskonstante zur Anwendung kam, betrifft, so ist er hier ganz willkürlich gewählt, d. h. an die Stelle der Kurve verlegt, wo die Wachstumsgeschwindigkeit pro Stunde etwa ${}^1/_2\,{}^0/_0$ der schon gebildeten Hefemenge bildet.

In der Tabelle VIII ist die Geschwindigkeitskonstante ($k = q/2{,}3026$) für die aus der Kurve (Fig. 2) abgelesenen Werte der gebildeten Hefemenge berechnet. Die Berechnung ist zwischen einem gewählten Anfangswert y_1 und dem Werte der Größe der Zellmasse nach 1, 2, 3 usw. Stunden (t) mittels der allgemeinen Formel (b) nach Einsetzung der folgenden Werte von n ausgeführt:

$$n = 1$$

also
$$k_1 = \frac{1}{\Delta t} \log \left[\frac{\log \frac{y_\infty}{y_\infty - y_2}}{\log \frac{y_\infty}{y_\infty - y_1}} \right]$$

$$n = 2$$

also
$$k_2 = \frac{1}{\Delta t} \log \frac{(y_\infty - y_1) y_2}{(y_\infty - y_2) y_1}$$

$$n = 3$$

also
$$k_3 = \frac{1}{\Delta t} \log \frac{[(y_\infty - y_2)^2 - y_\infty^2](y_\infty - y_1)^2}{[(y_\infty - y_1)^2 - y_\infty^2](y_\infty - y_2)^2}.$$

Der Wert von y_∞, der in der Versuchsserie zur Berechnung der Geschwindigkeitskonstante angewendet ist, ist aus der Stelle der Kurve entnommen, wo die Wachstumsgeschwindigkeit pro Stunde etwa $^1/_2{}^0/_0$ der schon gebildeten Hefemenge repräsentiert. Im folgenden wird gezeigt, wie nahe die so erhaltene Zahl mit dem theoretisch berechneten Wert von y_∞ übereinstimmt.

Tabelle VIII.

	$y_1 = 9{,}6$		$y_\infty = 670$	
t	y_2	k_1	k_2	k_3
1	18,3	$284 \cdot 10^{-3}$	$286 \cdot 10^{-3}$	$289 \cdot 10^{-3}$
2	29,0	243	247	250
3	47,2	235	239	243
4	71,1	223	228	233
5	119,1	227	234	243
6	174,6	220	231	242
7	257,3	218	233	250
8	350,7	214	235	258
9	441,0	208	236	268
10	513,3	203	235	277
11	559,7	191	231	281
12	594,8	182	228	286
13	629,4	177	233	305
14	640,8	167	227	304
15	651,1	160	225	309
16	655,9	152	219	305
17	659,6	145	214	303
18	661,8	138	208	297

Wie ersichtlich, bleibt k_1 innerhalb der Fehlergrenzen unter einem bedeutend größeren Teil des Verlaufs des Wachstums als k_2 und k_3, von denen das erstere einen stark fallenden, das letztere einen zum größeren Teil steigenden Gang aufweist, konstant. Bei sämtlichen im folgenden mitgeteilten Versuchsserien ist die Geschwindigkeitskonstante deshalb nach der Formel (b), nach Einsetzung des Wertes $n = 2$, berechnet. Natürlich ist es nötig, bei der Berechnung des mittleren Wertes von k solche Werte

von t zu vermeiden, bei denen die y-Kurve sich der geraden nähert, die den obenerwähnten sekundären Folgeprozeß darstellt. Im allgemeinen reicht die Formel, wie unten näher gezeigt wird, bis zu t-Werten, die sich um etwa einige Stunden von der Zeit unterscheiden, in welcher der Kurvenverlauf merklich geradlinig wird.

In der Gleichung (a) kann der Ausdruck e^{at} mit y ausgetauscht werden, was auch M'Kendrick und Kesava Pai[1]) erwähnt haben. Betreffs dieser Veränderung sei jedoch bemerkt, daß die Integrierbarkeit der Differentialgleichung (a) und somit auch deren praktische Anwendbarkeit hierdurch bedeutend eingeschränkt wird. In dem letzteren Falle läßt sich nämlich die Integrierung nicht für einen generellen Wert von n vornehmen, und ist überhaupt nur für ganze Zahlenwerte von n (resp. $1/n$) möglich, wozu kommt, daß für alle Werte außer für $n = 1$ sehr komplizierte, schwer anwendbare Interpolationsresultate erhalten werden. Mit Anwendung des allgemeinen Ausdruckes ( ) kann die Berechnung dagegen durch versuchsweise Einsetzung verschiedener Werte von n, den verschiedenen experimentellen Resultaten einfacher und schmiegsamer angepaßt werden.

Wie aus der Form der Kurve (Fig. 2) hervorgeht, muß zwischen der Lage des Inflexionspunktes und dem theoretischen Werte von y_∞ ein gewisses Verhältnis bestehen. In diesem Falle kann zur Bestimmung der angedeuteten Verhältnisse passend die Gleichung: $dy/dt = ky(y_\infty - y)^n$ zur Anwendung kommen. Für den Wert $n = 1$ hat diese Gleichung den integralen Ausdruck:

$$k = \frac{1}{\Delta t} \log \frac{(y_\infty - y_1) y_2}{(y_\infty - y_2) y_1}, \quad \ldots\ldots\ldots \quad (c)$$

d. h. sie hat dasselbe Aussehen wie die Gleichung (b) nach Einsetzung des Wertes $n = 2$, was übrigens mit der Art und Weise, wie die Integrierung der letzteren Gleichung zustande gekommen ist, zusammenhängt.

Wird (c) aufs neue deriviert, so erhält man:

$$\frac{d^2y}{dt^2} = -k \cdot y \frac{dy}{dt} + k(y_\infty - y)\frac{dy}{dt} = -k^2 y^2 (y_\infty - y) + k^2 (y_\infty - y)^2 y.$$

[1]) Proc. of the Roy. Soc. of Edinburgh **31**, 649.

Setzt man die zweite Derivate gleich 0 und löst die Gleichung, so geht hervor, daß die Kurve den gesuchten Inflexionspunkt für den Wert $y = y_\infty/2$ haben, d. h. daß sie bei dem halben Wachstum auftreten muß. Um zu entscheiden, wie nahe der theoretisch berechnete Wert von y_∞ mit dem oben willkürlich bestimmten übereinstimmt, braucht man nur die ersten und zweiten Differenzen zwischen sämtlichen y-Werten in Tabelle VIII auszurechnen. Es zeigt sich, daß zwischen den Werten $y = 257{,}3$, $y = 350{,}7$ eine Zeichenveränderung der zweiten Differenzen eintritt. Werden aus der Kurve mehrere zwischen den zuletztgenannten liegende Werte herausgenommen, so erhält man nach linearer Interpolation für die Lage des Inflexionspunktes den y-Wert: 341,9, weshalb y_∞ in diesem Falle theoretisch = 683,8 oder ca. 2% höher als der oben in Tabelle XIII angewandte sein sollte. Bei den Versuchen, bei denen sich ein solcher Vergleich zweckmäßig ausführen läßt, zeigt sich in der Regel eine Differenz nach oben von 2 bis 4%, welcher Unterschied im ungünstigsten Falle nur die Folge hat, daß die letzten Werte der Geschwindigkeitskonstante etwas niedriger ausfallen müssen; bei richtiger Unterscheidung der Grenze des Konstantbleibens der k-Werte (innerhalb der Fehlergrenzen) kann diese Differenz jedoch den mittleren Wert von k nicht beeinflussen.

Hier unten folgen die Rechnungsresultate von einigen, unter verschiedenen äußeren Bedingungen vorgenommenen Versuchsserien (vgl. Tabelle IX bis XVI).

Tabelle IX.

$y_1 = 25{,}5 \quad y_\infty = 503{,}0$

t	y_2	k
1	40,7	$217 \cdot 10^{-3}$
2	62,5	212
3	91,7	207
4	140,3	215
5	187,1	209
6	254,8	214
7	309,7	211
8	352,0	205
9	395,1	204
10	433,9	207
11	449,9	200
		$210 \cdot 10^{-3}$

Tabelle X.

$y_1 = 13{,}2 \quad y_\infty = 678{,}0$

t	y_2	k
1	24,0	$267 \cdot 10^{-3}$
2	39,0	244
3	63,6	239
4	103,5	240
5	156,6	236
6	239,7	240
7	327,6	239
8	407,5	235
9	471,5	229
10	533,7	227
11	584,3	227
		$236 \cdot 10^{-3}$

Tabelle XI.

$y_1 = 9{,}2 \quad y_\infty = 450$

t	y_2	k
2	23,4	$(210)\cdot 10^{-3}$
4	52,2	199
5	66,5	184
6	86,4	176
7	125,4	181
8	158,6	177
9	207,0	179
10	255,7	162
11	284,1	174
12	318,4	172
		$178\cdot 10^{-3}$

Tabelle XII.

$y_1 = 29{,}3 \quad y_\infty = 500$

t	y_2	k
1	52,5	$275\cdot 10^{-3}$
2	87,8	267
3	147,6	276
4	208,6	265
5	289,7	270
6	365,0	273
7	414,3	270
8	447,4	267
9	469,0	265
10	481,9	264
		$269\cdot 10^{-3}$

Tabelle XIII.

$y_1 = 32{,}0 \quad y_\infty = 770{,}0$

t	y_2	k
1	51,5	$218\cdot 10^{-3}$
2	80,2	214
3	120,2	210
4	182,8	214
5	250,0	209
6	337,0	209
7	435,3	211
8	534,9	215
9	596,4	211
10	650,8	210
		$212\cdot 10^{-3}$

Tabelle XIV.

$y_1 = 12{,}6 \quad y_\infty = 610{,}0$

t	y_2	k
1	19,7	$199\cdot 10^{-3}$
3	44,9	192
4	66,0	190
5	91,9	185
6	133,1	187
7	165,3	178
8	234,7	184
9	285,4	180
10	327,5	174
11	404,2	179
12	436,3	173
		$184\cdot 10^{-3}$

Tabelle XV.

$y_1 = 15{,}2 \quad y_\infty = 510{,}0$

t	y_2	k
3	44,4	$164\cdot 10^{-3}$
5	79,7	156
7	147,1	160
8	162,9	148
9	223,3	156
10	277,7	159
11	291,9	149
12	326,8	147
13	361,3	146
		$154\cdot 10^{-3}$

Tabelle XVI.

$y_1 = 8{,}3 \quad y_\infty = 370{,}0$

t	y_2	k
3	17,3	$110\cdot 10^{-3}$
5	27,0	107
7	37,1	98
9	62,2	105
11	79,8	98
13	106,9	96
15	140,3	95
17	187,1	97
		$101\cdot 10^{-3}$

Tabelle XVII.

Nr.	y_∞	$k\cdot 10^3$	Bemerkungen
9	503	210	—
10	678	236	Luft } 6 Lit./St.
11	450	178	Sauerstoff } 6 Lit./St.
12	500	269	Stickstoff } 6 Lit./St.
13	770	212	—
14	610	184	1,5% Alkohol } zugesetzt
15	510	154	3,0% „ } zugesetzt
16	370	101	6,0% „ } zugesetzt

Aus den in Tabelle XVII zusammengestellten Versuchsresultaten geht hervor, daß die Luftzufuhr die Wachstumsgeschwindigkeit um ca. 12 % und die Einleitung von Stickstoff um 28 % erhöht, während das Sauerstoffgas die Wachstumsgeschwindigkeit um 15 % verringert. Die Ursache hierfür ist natürlich die, daß die Kohlensäure, die als Umwandlungsprodukt hemmend auf das Wachstum wirkt, durch die Gaseinführung aus der Gärungsflüssigkeit entfernt wird. Das reine Sauerstoffgas hat indessen eine bedeutend stärkere paralysierende Einwirkung auf die Wachstumsgeschwindigkeit als die Kohlensäure.

Daß die Anwesenheit von Alkohol auf die Vermehrungsfähigkeit der Hefezellen in hohem Grade hemmend wirkt, ersieht man aus einem Vergleich zwischen den 4 letzten Versuchsserien (Nr. 13 bis 16). Die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt stark und nahezu proportional der in der Würze befindlichen Alkoholmenge ab. Bei Zusatz von 12 Gewichtsprozent Alkohol erhielt man keine bemerkbare Hefevermehrung.

Größe der Hefevermehrung.

Zur Beurteilung der Abhängigkeit der Hefeausbeute von verschiedenen äußeren Versuchsbedingungen sind die erhaltenen Werte von y_∞ hier unten einer vergleichenden Prüfung unterworfen worden. Aus den in Tabelle XVII angeführten Versuchsresultaten geht unmittelbar hervor, daß die Lüftung eine bedeutende Einwirkung (ca. 35 % Erhöhung) auf die Größe des Hefeertrages ausübt. Die in der Literatur vorkommenden Angaben über die Bedeutung der Lüftung stehen in starkem Widerspruch zueinander[1]), in der Praxis dürften die meisten Preßhefefabriken die Würze eine längere oder kürzere Zeit während des Wachstums lüften. Daß die oben erhaltene Steigerung im Hefeertrag dem Sauerstoff zuzuschreiben ist, geht beim Vergleich mit Versuch 12 hervor, bei dem Stickstoff eingeleitet wurde; in dem letzteren Fall ist nämlich der Ertrag beinahe ebenso groß, wie bei der Hefevermehrung ohne Luftzufuhr. Es ist indessen zu beachten, daß das Resultat der

[1]) Vgl. Nathan und Fuchs, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 29, 320 (Literaturverzeichnis).

stimulierenden Einwirkung des Sauerstoffs (der physiologische Effekt) in hohem Grade von dem Partialdruck des Sauerstoffgases abhängt; bei Einleitung reinen Sauerstoffgases tritt eine Hemmung der Vermehrung ein und nimmt der Ertrag um $10\,\%$ ab. Das letztere hat wahrscheinlich seinen Grund darin, daß ein Teil des Nährsubstrates von den Hefezellen zum Schutz gegen den Sauerstoff gebunden wird (vgl. unten). Ob die Einwirkung des Sauerstoffes auf die Gärkraft der Zellen eine andere als die auf deren Vermehrungsfähigkeit ist, läßt sich aus diesen Versuchen nicht direkt entscheiden. Eine relativ stärkere Hemmung in letzterer Beziehung hat natürlich die Folge, daß der Gärungsprozeß die Oberhand gewinnt und daß deshalb, wenn der disponible Zucker verbraucht ist, der Hefeertrag niedriger als z. B. bei der Einleitung von Stickstoffgas oder Luft ausfällt.

Nach M. Delbrück[1]) soll der Hefeertrag mit der Ansatzmenge steigen. Dies kann indessen nicht der Fall sein, was schon aus dem oben über den Verlauf der Vermehrung selbst Gefundenen hervorgeht; denn der Wert von y_∞ ist ja unter im übrigen gleichen Bedingungen unabhängig davon, an welcher Stelle der y-Kurve die Vermehrung beginnt. Zur größeren Gewißheit wurden folgende Versuche angestellt (vgl. Tabelle VIII):

a	y_∞
1,4	763
15,1	740
145,0	755

Trotzdem die Größe des Ansatzes (a) nahezu im Verhältnis von 1 : 10 : 100 wechselt, beträgt der Unterschied zwischen den in jedem Falle erhaltenen Hefeerträgen höchstens $3\,\%$, d. h. er fällt innerhalb der Variationsgrenze für die betreffenden Bestimmungen. Dies gilt natürlich so lange, wie die Größe der Aussaat ein Bruchteil des Wertes von y_∞ ist; wenn dieselbe ein Mehrfaches von y_∞ ist, können ganz andere Verhältnisse eintreten. So kann es z. B. dabei passieren, daß wegen Raummangels keine Zellteilung stattfindet[2]).

Eine sehr wichtige Rolle für den Hefeertrag spielt dagegen die Konzentration der Würze; in sämtlichen oben mit-

[1]) Wochenschr. f. Brauerei 1884, 381.
[2]) Vgl. auch F. Hayduck, Wochenschr. f. Brauerei 1911, 231.

geteilten Versuchen war die angewendete Würze mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnt. Läßt man dagegen die Hefe in unverdünnter Würze wachsen, so erhält man keineswegs den doppelten Wert von y_∞ bei demselben Volumen, sondern einen bedeutend geringeren. Wird die Würze vor dem Ansatz mit weiteren Mengen Wasser versetzt, so entsteht ein noch höherer Hefeertrag; der letztere steigt somit mit der Verdünnung. In Fig. 3 sind die gefundenen Hefemengen in einer Serie Vermehrungsversuche mit Würze von verschiedener

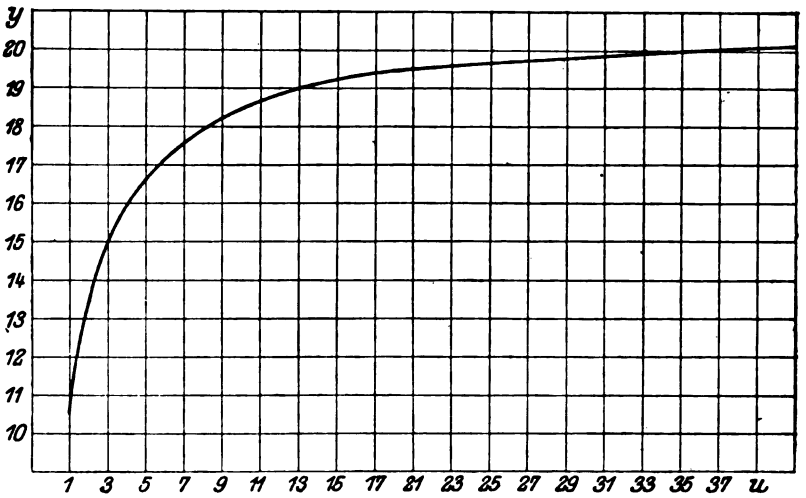


Fig. 3.

Konzentration graphisch abgebildet; die Verdünnung (u) ist als Abszisse, der Hefeertrag (y_∞) als Ordinate abgesetzt; der obere Zweig der Kurve tendiert asymptotisch zu einem gewissen Grenzwert (Y_∞) des Ertrages.

Mittels der Gleichung:

$$dy_\infty / du = (Y_\infty - y_\infty)^r$$

läßt sich, falls $r = 2$ gesetzt wird, die Kurve ganz wohl ausdrücken, in welchem Falle die Integrierung das Resultat

$$q = 1/u \cdot Y_\infty / y_\infty (Y_\infty - y_\infty) \quad \ldots\ldots \quad \text{(d)}$$

ergibt.

Aus Fig. 3 geht hervor, daß man bei der fraglichen Würze und Hefeart ohne allzu großen Fehler $Y_\infty = 2020$ annehmen kann. In der folgenden Tabelle XIX ist q aus den gefunde-

nen Werten von y nach der Gleichung (d) berechnet; für unverdünnte Würze ist $u = 1$ gesetzt.

Tabelle XIX.

u	y_∞	q
1	1050	$55 \cdot 10^{-3}$
2	1340	54
3	1510	51
4	1600	53
5	1660	50
7	1750	46
10	1840	48
20	1940	47
		Mittel: $52 \cdot 10^{-3}$

Wahrscheinlich kann der mittlere Wert von q, der innerhalb des praktisch anwendbaren Verdünnungsgebietes der Würze eine gute Übereinstimmung zeigt, als ein charakteristischer Faktor, die „Verdünnungskonstante", für die betreffende Hefeart betrachtet werden. Dieselbe würde sozusagen die Alkoholempfindlichkeit der Hefekultur unter den angewandten Versuchsbedingungen ausdrücken; ein Teil des Nährsubstrats dürfte nämlich von den Hefezellen zum Schutz gegen die Einwirkung des Alkohols gebunden werden. Dieses Schutzsubstrat wird somit der Assimilation der Hefe entzogen, weshalb sich die Hefeausbeute mit der erhöhten Alkoholmenge in der Würze, also auch mit der Konzentration der Würze bei der Gärung vermindert. Diese Annahme wird durch die Versuche Tabelle XX, bei denen die Würze von Anfang an mit verschiedenen Mengen Alkohol versetzt wurde, bestätigt.

Tabelle XX.

Nr.	A zugesetzt	A gefunden	y_∞	ΔA gefunden	$\Delta y_\infty / y_\infty$
1	—	0,97	770	—	—
2	1,50	2,28	610	1,31; (1,00)	0,262; (1,00)
3	3,00	3,65	510	2,68; (2,05)	0,510; (1,95)
4	6,00	6,42	370	5,45; (4,16)	1,081; (4,13)

Die unter der Rubrik gefundener Alkoholgehalt (A, Gewichtsprozent) aufgenommenen Werte sind auf folgende Weise erhalten. Nach Abscheidung der Hefe durch Zentrifugierung wurden 75 ccm der vergärten Würze destilliert; ca. $^2/_3$ davon wurden in einem genau ausgewogenen, langhalsigen Pyknometer

aufgenommen, gewogen usw.; der Alkoholgehalt wurde danach unter Anwendung von Hehners Tabellen berechnet. Um zu ermitteln, ob zwischen dem Alkoholgehalt beim Aufhören der Vermehrung (bei y_∞) und der Menge des von den Hefezellen gebundenen Nährsubstrats eine einfache Beziehung besteht, sind die Zahlen in der 4. und 5. Kolumne in folgender Weise ausgerechnet. ΔA bezeichnet die Differenzen zwischen dem gefundenen Alkohol in den Versuchen 2 bis 4 und 1, bei welch letzterem Versuch kein Zusatz von Alkohol von Anfang an stattgefunden hat. Um eine Auffassung von der relativen Menge des von den Zellen gebundenen Nährsubstrats zu erhalten, ist in der letzten Kolumne die Differenz zwischen dem Hefeertrag bei Versuch 1 und jedem der 3 anderen Versuche mit den resp. Werten derselben von y_∞ dividiert. Die Zahlenverhältnisse zwischen den so gefundenen Werten finden sich in Klammern. Wie ersichtlich, ist die per Einheitsmenge Hefe gebundene (resp. der Vermehrung entzogene) Substratmenge in den vorliegenden Fällen beinahe proportional der vorhandenen Alkoholmenge. Wird der Alkohol aus der durch Zentrifugierung von der gebildeten Hefemasse befreiten Würze abdestilliert und, nachdem die letztere mit Wasser zu dem ursprünglichen Volumen verdünnt worden ist, mit neuer Hefe angesetzt, so erhält man eine wiederholte Vermehrung. Dies ist ein kräftiger Beweis für die oben gemachte Annahme von dem Verhältnis der Zellen zum Nährsubstrat bei Anwesenheit von Alkohol und Sauerstoff. Die sekundäre Vermehrung erhält auch bei Kenntnis dieses Umstandes eine einfache und plausible Erklärung. Beim Zurückbleiben in der Gärungsflüssigkeit stirbt nämlich ein Teil Zellen aus, wobei das von ihnen gebundene Nährsubstrat entbunden wird und eine fortgesetzte Zellvermehrung veranlaßt.

In einer folgenden Mitteilung sollen Untersuchungen über die Vermehrungsgeschwindigkeit bei verschiedenen Heferassen und ihre Abhängigkeit von der Temperatur u. a. beschrieben werden.

Bemerkung zu einer Mitteilung von G. Sonntag: „Die Methode von Gabriel Bertrand zur Zuckerbestimmung".

(Diese Zeitschr. **53**, 501, 1913.)

Von

M. Rosenblatt (Paris).

(Eingegangen am 17. Oktober 1913.)

In Erwiderung auf die Bemerkung Herrn G. Sonntags, daß ich in meiner Arbeit[1]): „Über die quantitative Bestimmung von Glucose bei Gegenwart von fremden Stoffen nach der analytischen Methode von Gabriel Bertrand" mit Unrecht die Methode mit dem Namen des französischen Gelehrten bezeichnet habe, da das Prinzip derselben Mohr zukommt, kann ich hinweisen, daß vor mir schon mehrere Autoren[2]) diese jetzt klassisch gewordene Zuckerbestimmungsmethode als Bertrandsche bezeichnen. Und zwar berechtigt dazu die Tatsache, daß wir Gabriel Bertrand die Ausarbeitung des Mohrschen Prinzips in eine einfache, leicht ausführbare und exakte analytische Methode mit Tabellen für 12 verschiedene Zuckerarten[3]) ver-

---

[1]) M. Rosenblatt, diese Zeitschr. **43**, 478, 1912.

[2]) E. Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **2**, 181, 1910. — C. Neuberg, Der Harn **1**, 396, 1911. — Cas. Funk, Zeitschr. f. physiol. Chem. **56**, 507, 1908. — E. Frank und A. Bretschneider, Zeitschr. f. physiol. Chem. **71**, 157, 1911. — Takahashi, diese Zeitschr. **37**, 30, 1911 und viele andere.

[3]) G. Bertrand, Bull. Soc. Chim. de France **35**, 1285, 1906. Die Tabellen sind für Glucose, Invertzucker, Mannose, Galaktose, Sorbose, Xylose, Arabinose, Dioxyaceton, Maltose und Lactose angegeben. Später sind Mitteilungen von G. Bertrand erschienen: Bull. Soc. Chim. **4** Série **5**, 629, 1909, mit einer Tabelle für die Perseulose. Die Tabelle für die Rhamnose findet man in dem „Guide pour les manipulations de Chimie biologique" G. Bertrand-P. Thomas, IIe Edition, H. Dunod et E. Pinat, Editeurs, Paris 1913.

danken. Diese hatte eine Reihe von wichtigen Untersuchungen auf rein chemischem und biochemischem Gebiete zur Folge. Die obenerwähnten Gelehrten, sowie viele andere konnten mehrmals die sorgfältige und genaue Ausarbeitung dieses analytischen Verfahrens schätzen lernen und dasselbe infolgedessen Bertrandsche Methode nennen.

Bezüglich der Bemerkung des Herrn G. Sonntag: „von G. Bertrand selbst werden außer Mohr noch aufgeführt: Wolff, Annales et Rev. de Chim. analyt. 1905 und Gatin, Recherches anatom. et chim. sur la germination des palmiers. Thèse de Paris 1906“ möchte ich erwähnen, daß die genannten Untersuchungen im Laboratorium G. Bertrands, und zwar nach dessen wissenschaftlichen Angaben ausgeführt waren. Die Methode selbst ist schon längst in seinem Laboratorium gebräuchlich.

Zur Kenntnis der Giftwirkung arteigener Organprodukte.

Von

Friedrich Simon, Berlin.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 21. Oktober 1913.)

Noch hat die für das Verständnis so vieler physiologischer und pathologischer Vorgänge außerordentlich wichtige Frage nach der Bedeutung der Autolyse für den lebenden Organismus keineswegs ihre endgültige Lösung gefunden; noch ist nicht das letzte Wort zur Entscheidung des Problems gesprochen, ob die in vitro so häufig und sorgfältig studierten Erscheinungen der Organautolyse uns wirklich ein getreues Spiegelbild der intra vitam verlaufenden Abbauprozesse entwerfen. Eine eindeutige experimentale Beantwortung dieser Frage wäre um so freudiger zu begrüßen, als so manches Wissensgebiet, auch praktischer Richtung, eine entschiedene Bereicherung und glückliche Befruchtung von den Ergebnissen der Autolyseforschung zu erhoffen hätten, wie erst kürzlich wieder Albu[1]) im Hinblick auf die Autointoxikationslehre betont hat. An zahlreichen Versuchen, dem Rätsel von der vitalen Bedeutung der Autolyse nachzuspüren, hat es nicht gemangelt, wenn auch die wenigsten Autoren mit vollem Bewußtsein dieses Zieles und auf geradem Wege an die Lösung der schwierigen Aufgaben herangetreten sind. Müßte man doch eigentlich als Beiträge zur Erforschung dieses Gebietes alle die Arbeiten verzeichnen, die sich mit den biophysischen und biochemischen Eigenschaften und Wirkungen der arteigenen Eiweißkörper, soweit sie den Organen des gleichen Individuums oder der gleichen Tierart entstammen, beschäftigen. In der Tat haben wohl

[1]) Albu, Berl. klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 33, S. 1514.

fast alle Organe unserer gebräuchlichen Laboratoriumstiere schon als Versuchsobjekte gedient, und zwar zum Studium der Giftwirkungen, welche die Organe in der Gesamtheit oder in einzelnen ihrer Bestandteile, als Emulsionen, als wässerige oder alkoholische Extrakte, auf Tiere der gleichen Art entfalten.

So haben u. a. auf ihre Toxizität geprüft: Aronson[1]) Lungen, Milz, Pankreas, Thymus, Gehirn, Nieren, Muskeln und Leber von Kaninchen und Meerschweinchen; Bianchi[2]) Lungen, Lymphdrüsen, Nebennieren, Hypophyse und Schilddrüse von Kaninchen; Busson[3]) Lungen, Milz, Herz, Nieren und Leber von Meerschweinchen; Doberauer[4]) Hundepankreas; H. Dold[5]) Lunge, Milz, Leber, Niere, Gehirn, Muskulatur und Hoden von Meerschweinchen; Dold und Ogata[6]) verschiedene Teile des Kaninchenauges; Dold und Rados[7]) Kaninchenhornhaut und Lunge; Dubois und Boulet[8]) Prostata des Hundes; v. Dungern und Hirschfeld[9]) Kaninchenhoden; Fellner[10]) trächtigen und nichtträchtigen Kaninchenuterus; Friedberger[11]) Lungen und Leber von Kaninchen; Freund[12]) Kaninchenplacenta; Garnier und Bory[13]) Kaninchennieren; Izar und Fagiuoli[14]) Hoden von Rindern, Hunden und Kaninchen; Izar und Patané[15]) Lungen von Tauben und Spatzen; Kapsenberg[16]) Leber und Niere von Kaninchen; Korschun und Morgenroth[17]) Meerschweinchenmagen, -milz, -nebenniere, -niere, -darm, Mäusedarm und -magen, Rattendarm und -magen, Ochsenpankreas; Kraus und Volk[18]) Leber und Milz normaler und tuberkulöser Meerschweinchen; Lederer

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 14; **1913**, Nr. 6.

[2]) Pathologica **3**. Referat in Weichhardts Jahresber. üb. d. Ergebn. d. Immunitätsf. **2**, 7, 48 bis 51, 1911.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Origin. **65**, Heft 1/3, S. 142, 1912.

[4]) v. Bruns Beiträge z. klin. Chir. **48**, 456, 1906.

[5]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **1** [10], S. 53, 1911.

[6]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **13**, 667, 1912.

[7]) Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 31.

[8]) Compt. rend. Soc. Biol. 72, 701, 1912.

[9]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **4**, 257, 1909.

[10]) Centralbl. f. Physiol. **23**, 347, 1909.

[11]) Berl. klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 2 (Sitzungsber. d. Berl. mikrobiol. Ges. v. 12. XII. 1912).

[12]) Berl. klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 15.

[13]) Compt. rend. Soc. Biol. **74**, Nr. 7, S. 344, 1913.

[14]) Biochim. e Terap. spec. **3**, 446 bis 457, 1912. Referat: Z. f. Immunitätsf. Ref. **6**, Heft 11, S. 866, 1912.

[15]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **14**, 448, 1912.

[16]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **12**, Heft 5, 1912.

[17]) Berl. klin. Wochenschr. **1902**, Nr. 37.

[18]) Wiener klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 8.

und Pfibram[1]) Placenta und Leber von Ziegen; Pearce[2]) Nieren von Kaninchen, Hunden und Katzen; Popielski[3]) (unter vielen anderen Organen) Hundepankreas; Roger[4]) Niere, Gehirn, Leber, Muskeln von Kaninchen; Rossi[5]) Hundegehirn; Stühmer[6]) Lunge, Herz, Milz, Niere, Leber von Kaninchen; Uhlenhuth und Weidanz[7]) Leber, Lunge, Herz, Nieren, Milz, Linsen, ganze Embryonen von Mäusen.

Was nun die Ergebnisse dieser Toxizitätsprüfungen betrifft, so haben die meisten der aufgeführten Autoren mehr oder minder deutliche und charakteristische Giftwirkungen bei parenteraler Einverleibung der verschiedenen Organprodukte feststellen können, sei es, daß diese Wirkungen sich auf das Allgemeinbefinden der injizierten artgleichen Tiere oder nur auf Störungen einzelner physiologischer Leistungen und Veränderungen bestimmter anatomischer Substrate erstreckten. Nur wenige Forscher haben die von anderen Untersuchern beobachteten Giftwirkungen einzelner Organprodukte vermißt.

So vermißten sie Doberauer (l. c.) bei seinen intraperitonealen Injektionen von Hundepankreas, Kraus und Volk (l. c.) bei ihren intravenösen Einspritzungen von Leber- und Milzextrakten normaler Meerschweinchen, Martin[8]) bei seinen intravenösen Injektionen von Kaninchenplacentaemulsionen, Rossi (l. c.) bei intraperitonealer Einverleibung von Hundegehirnemulsionen. Vielen der genannten Autoren haben sich auch die einzelnen geprüften Organe in der Art und Stärke ihrer Giftwirkungen keineswegs gleichwertig erwiesen, vielmehr vermögen einige sogar Toxizitätsskalen der Organe aufzustellen. Bemerkenswert erscheint dabei, daß mehrere Untersucher die Lunge als das giftigste, mehrere die Leber als das ungiftigste unter den an artgleichen Tieren geprüften Organen erklären (Aronson, Busson, Friedberger, Stühmer). Ähnliche Erfahrungen hinsichtlich geringer oder völlig fehlender Toxizität arteigener Lebersubstanz sind auch in anderen Arbeiten verzeichnet. So haben Lederer und Pfibram[9]) bei intravenöser Injektion von Ziegen mit frischen Ziegenleberextrakten jede Wirkung vermißt, während Contejean[10]), der Hunde mit Hundeleberextrakt intravenös spritzte, und Fukuhara[11]), der frischen Kaninchen- und Meerschweinchenlebersaft intraperi-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **134**, 531 bis 544, 1910.
[2]) Journ. of Experim. Med. **11**, 130 bis 143.
[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **128**, 207, 1909.
[4]) Compt. rend. Soc. Biol. **1891**, 727.
[5]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **9**, 652, 1911.
[6]) Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 45.
[7]) Arbeiten a. d. Kais. Gesundh.-Amt **30**, 434, 1909.
[8]) Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gyn. **24**, 590, 1906.
[9]) Arch. f. d. ges. Physiol. **134**, 531 bis 544, 1910.
[10]) Compt. rend. Soc. Biol. 11. Juillet 1896, S. 752.
[11]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **4**, 658 ff., 1907.

toneal einverleibte, zwar keine unmittelbaren Vergiftungssymptome, jedoch konsekutive Blut- bzw. Organveränderungen beobachten konnten. Kapsenbergs[1]) sowie M. Leubes[2]) Versuche mit individuum- bzw. arteigener Kaninchenleber haben zu keineswegs eindeutigen Ergebnissen geführt, da einige ihrer Tiere die Injektionen anstandslos vertrugen, andere dagegen mit heftigen Intoxikationserscheinungen beantworteten und an diesen akut oder nach kurzer Zeit zugrunde gingen. Diese inkonstante Reaktionsfähigkeit der Kaninchen auf Einverleibung arteigener Leberextrakte beobachtete auch Stühmer[3]) und macht dafür den jeweiligen Ernährungszustand der verwendeten Leber bzw. ihrer Spender verantwortlich, eine Erklärung, die durch Bussons[4]) Erfahrungen mit hochgiftigen Lebern verhungerter und relativ ungiftiger normaler Meerschweinchen bestätigt wird. Im Gegensatz zu den genannten hat aber eine Reihe anderer Autoren deutliche und konstante Giftwirkungen bei parenteraler Einverleibung arteigener Leberprodukte feststellen können. So bereiteten Bauer und Wüsthoff[5]) aus frischem Meerschweinchenleberbrei Extrakte, die Meerschweinchen bei intravenöser Injektion unter den Erscheinungen der Anaphylaxie töteten. Ebenfalls akut tödlich auf Kaninchen wirkten die Extrakte, die Garnier und Bory[6]), Mairet und Vires[7]), Roger[8]), Valdagni[9]) aus artgleichen Lebern darstellten. Allerdings wurden in diesen Fällen massive Dosen injiziert, z. B. von Valdagni intraperitoneal Extrakt aus 7 g Leber pro Kilogramm Kaninchen, von Garnier und Bory Extrakt aus 14 g Leber pro Kilogramm intravenös, von Roger intravenös Extrakte aus 28, 29, 33, 34, 42 g Leber, von Mairet und Vires Extrakte aus 8, 19 und 60(!) g Leber pro Kilogramm Kaninchen intravenös.

Durchaus zu beachten bei allen Intoxikationsversuchen mit Organextrakten ist aber ein Befund, den eine Anzahl von Forschern übereinstimmend erhoben haben, ein Befund, der sich auf das Verhalten frischer Organextrakte zu homologem Serum bezieht.

Aronson[10]), Busson[11]), Dold[12]), Izar[13]) und Stühmer[14]) konnten

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **12**, Heft 5, 1912.

[2]) Inaug.-Diss. Tübingen 1904.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 45.

[4]) Centralbl. f. Bakt., Orig. **65**, Heft 1/3, S. 142, 1912.

[5]) Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 19.

[6]) Compt. rend. Soc. Biol. **74**, Nr. 7, S. 344, 1913.

[7]) Arch. de Physiol. norm. et path. **9**, 353 bis 362, 1897.

[8]) R. accad. di Torino **64**, 610. Referat: Maly **32**, 486.

[9]) Compt. rend. Soc. Biol. **1891**, 727.

[10]) Berl. klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 6.

[11]) Centralbl. f. Bakt., Abt. I **65**, Heft 1/3, S. 142, 1912.

[12]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **10**, 53, 1911. — Deutsche med. Wochenschr. **1911**, Nr. 36. — Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 49.

[13]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **16**, 557, 1913.

[14]) Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 45.

nämlich feststellen, daß sonst sicher toxische Organextrakte von Kaninchen und Meerschweinchen durch Behandlung mit frischem Serum entgiftet oder wenigstens in ihrer Toxizität gehemmt werden. Allerdings müssen Extrakt und Serum in einem bestimmten Mengenverhältnis zu einander stehen und eine gewisse Zeit unter bestimmter Temperatur aufeinander einwirken, durch welchen Umstand sich vielleicht die negativen Ergebnisse Bianchis[1]) u. a. erklären lassen. Für das Zustandekommen dieser Entgiftungsvorgänge möchte Dold (l. c.) weniger Komplement- als Ferment- bzw. Antifermentwirkungen verantwortlich machen. Beachtenswert ist dabei, daß auch Ascoli und Izar[2]) die enzymatische Wirkung des Blutserums zur Erklärung ihrer freilich ganz entgegengesetzten Beobachtungen heranziehen, da sie nicht nur keine Entgiftung, sondern geradezu ein Giftigwerden vorher ungiftiger Organextrakte durch Digestion mit ihrem homologen Serum nachzuweisen glaubten. A. und I. nennen die parenteral verdauenden und mit der Giftbildung angeblich in ursächlichem Zusammenhang stehenden Serumstoffe „Parhepsine".

Diesen einander widersprechenden Befunden gemeinsam ist aber die Annahme, daß die biologischen Eigenschaften frischer Organextrakte durch Fermentwirkungen tiefgreifende Veränderungen (sei es im Sinne der Entgiftung, sei es der Giftbildung) erleiden können. Ein hier besonders interessierendes Beispiel solcher Fermentwirkungen ist die Autolyse, für deren Beteiligung an der Organextraktgiftbildung sich Belege in der Literatur vorfinden. Zwar bestreitet Aronson[3]), daß die Entstehung von Organextraktgiften auf autolytischen Vorgängen beruhe, da seine ganz frisch hergestellten Auszüge mindestens ebenso wirksam waren wie die nach längerem Stehen der Organe (unter Toluolzusatz) bereiteten. Die gegenteilige Beobachtung machten aber Kraus, Löwenstein und Volk[4]) — nämlich die, daß Extrakte aus frischen normalen Lebern, Milzen, Nieren, Gehirnen von Meerschweinchen keine Wirkung auf Meerschweinchen hatten und erst dann sich als toxisch erwiesen, wenn die getöteten Tiere bis zur Entnahme der Organe 24 bis 48 Stunden bei Zimmertemperatur gelegen hatten. Ferner sprechen für die Wirksamkeit autolytischer Prozesse die Feststellungen von Friedemann[5]) sowie Izar und Patané[6]). Nach Friedemann, der die meisten seiner Versuche mit Hundeorganen und an Hundeblut anstellte, enthält die Milz im frischen Zustande keine Hämolysine; sie entstehen vielmehr erst bei der Autolyse und sind größtenteils ätherlöslich; die Hämolysine von Pankreas, Leber und Niere entstehen ebenfalls erst während der Autolyse, sind aber in Äther unlöslich. Nach Izar und Patané ist eine kurzdauernde (7 Std. bei 37°) Autolyse von wässerigen Taubenlungen-

[1]) Pathologica, 8 Ref.: Weichardts Jahresber. 2, 7, 48 bis 51, 1911.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 20.
[3]) Berl. klin Vochenschr. 1913, Nr. 6.
[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 9.
[5]) Arch. f. Hygiene 69, Heft 2, S. 105, 1909.
[6]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. 14, 448, 1912.

extrakten imstande, die Giftigkeit dieser Auszüge für artgleiche Tiere noch kräftig zu steigern.

Es fehlte aber auch nicht an Versuchen, die Autolyse geradezu zur Erzeugung biologisch besonders wirksamer Derivate auszunutzen und an ihnen die Giftigkeit der autolytischen Organprodukte zu studieren. Diese Aufgabe stellte sich eine Reihe von Arbeiten, die zwar alle die gleiche Tendenz, aber eine verschiedene Methodik aufweisen. Auf die gebräuchliche Methodik der Organautolyse verzichten nun die Forscher, die durch operative Eingriffe am lebenden Tiere nekrotische Veränderungen bestimmter Organe hervorriefen und aus dem Verhalten der unter dem Einfluß der resorbierten Zerfallsprodukte stehenden Tiere auf die Toxizität autolysierter Organe zu schließen suchten. Hierhin gehören die Arbeiten von Bierry[1]) sowie Lüdke und Schüller[2]), die Hunden bzw. Kaninchen die eine Nierenarterie unterbanden und nach Verlauf einiger Wochen von den operierten Tieren Serum gewannen. Dieses „nephrotoxische" bzw. „autonephrolysin"haltige Serum verursachte — anderen artgleichen Tieren intravenös eingespritzt — bei diesen länger anhaltende Albuminurie. Gangolphe und Courmont[3]) unterbanden einem Bock die Samenstränge und beobachteten dann, als nach 6 Tagen „Nekrobiose" eingetreten war und die Ligatur gelöst wurde, an dem Tiere mehrtägige Temperatursteigerungen, die auch bei anderen Tieren durch parenterale Einverleibung von Extrakten aus „nekrobiotischem" Scrotuminhalt regelmäßig hervorgerufen werden konnten. Guleke[4]) sowie Doberauer[5]) bewirkten durch Resektion und Zerstückelung bzw. Unterbindung und Durchtrennung nekrotischen Zerfall von Hundepankreas und in der Folge schwere Krankheitserscheinungen mit schließlichem Tode der operierten Tiere. D. gelang es auch, durch intraperitoneale Injektion von nekrotisch zerfallenem Pankreas bei gesunden Hunden tödliche Erkrankungen zu erzeugen.

Es erscheint allerdings fraglich, ob es angeht, den experimentell bewirkten nekrotischen Zerfall mit der Autolyse der Organe, wie wir sie seit Salkowskis Entdeckung der Autolyse begreifen, zu identifizieren. Deshalb möchte ich zu vergleichenden Betrachtungen eher die Ergebnisse der Arbeiten heranziehen, die sich in ihrer Versuchsanordnung an die gebräuchliche Methodik der Autolyse anlehnen. Hier mögen folgende Befunde erwähnt werden:

35 Tage lang antiseptisch autolysiertes Meerschweinchenherz wirkt nach Fukuhara[6]) hämolytisch auf Meerschweinchenblut. Nach dem-

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **53**, 839, 1901.
[2]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **108**, 584, 1912.
[3]) Arch. de méd. experim. **3**, 504, 1891.
[4]) Arch. f. klin. Chir. **78**, 845 u. **85**, 615.
[5]) v. Bruns Beitr. z. klin. Chir. **48**, 456. 1906.
[6]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie **4**, 658ff., 1907.

selben Autor wirkt ebenso lange autolysierte Rindermilz auf Rinderblut nicht hämolytisch, Hundemilz (8 Tage lang aseptisch autolysiert) nach Conradi[1]) auf Hundeblut gerinnungshemmend. Ebenso verhielt sich nach Conradi 12 Tage lang antiseptisch autolysiertes Hundepankreas. Abelous und Bardier[2]) stellten fest, daß 6 bis 8 Tage lang antiseptisch autolysierte Muskeln und Gehirne von Kaninchen bei intravenöser Injektion zwar keine akuten Störungen bei Kaninchen auslösten, jedoch insofern toxisch, und zwar in verschiedenem Grade, wirkten, als die mit autolysiertem Gehirn vorbehandelten Tiere auf eine Dosis „Urohypotensin" viel intensiver (und stets mit tödlichem Ausgang) reagierten als die mit Muskelautolysaten vorbehandelten. Hinsichtlich der Nierenautolysate konstatierte Conradi (l. c.), daß 16 Tage lang antiseptisch autolysierte Hundeniere auf Hundeblut nicht gerinnungshemmend, wohl aber hämolytisch wirkte, welch letzteren Befund Fukuhara (l. c.) für 35 Tage lang autolysierte Rinderniere nicht erheben konnte. Dagegen wirkten nach demselben Autor Meerschweinchennierenautolysate auf artgleiche Tiere bei intraperitonealer Injektion toxisch und riefen eine langsam zum Tode führende Kachexie hervor. Für die Beziehungen zwischen Dauer der Autolyse und Toxizität ihrer Produkte ist die Beobachtung von Garnier und Bory[3]) interessant, daß, je länger (bis zum 7. Tage) Kaninchennieren autolysiert werden, um so mehr ihre koagulierende Wirkung auf intravenös gespritzte Kaninchen abnimmt. Das analoge Verhalten konnte Conradi (l. c.) für (aseptische) Kaninchenleberautolysate feststellen, die nach 2, 4 oder 20stündiger Autolyse auf Kaninchenblut gerinnungsbeschleunigend, nach 24, 30 oder 96stündiger aber hemmend wirkten, ebenso wie Hundeleber auf Hundeblut nach 20 bzw. 38stündiger Autolyse. Auch antiseptisch (12 Tage lang) autolysierte Hundeleber wirkte auf Hundeblut gerinnungshemmend und zugleich hämolytisch, welch letztere Eigenschaft auch Fukuhara (l. c.) an einem 37tägigen Meerschweinchenleberautolysat mit Bezug auf Meerschweinchenblut beobachtete. Es scheint also eine relativ lange Dauer der Autolyse nicht imstande zu sein, gewisse Wirkungen ihrer Produkte aufzuheben. In Übereinstimmung damit fand Franceschelli[4]), der Kaninchen mit Rinderleberautolysaten vorbehandelte und dann ihr Serum auf präzipitierende Eigenschaften mit den Autolysaten prüfte, selbst nach 5monatiger Dauer der Autolyse keine deutliche Abnahme der präcipitabelen Substanzen. Allerdings scheinen nicht alle biologisch wirksamen Faktoren der Leberautolysate von der langen Dauer des autolytischen Prozesses unberührt zu bleiben, da Mac Fahrland[5]) zeigen konnte, daß 7 bis 19tägige Kaninchenleberautolysate — bei arteigenen Tieren intravenös injiziert — keinerlei Intoxikationssymptome auslösten, während

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 136ff., 1902.
[2]) Compt. rend. Soc. Biol. 72, 874, 1912.
[3]) Compt. rend. Soc. Biol. 74, 344, 1913.
[4]) Arch. f. Hygiene 70, 163, 1909.
[5]) Arch. f. Hygiene 71, 1, 1909.

dies nach Einverleibung 24stündiger Autolysate — wenn auch nur in geringer Intensität — der Fall war. Einen eigentlichen anaphylaktischen Anfall konnte Mac Fahrland jedenfalls nicht mit seinen Leberautolysaten auslösen. Ebenso vermißten Abelous und Bardier (l. c.) bei ihren mit arteigenen Leberautolysaten intravenös gespritzten Kaninchen irgendwelche bedrohlichen Symptome. Fukuharas (l. c.) Resultate waren insofern inkonstante, als ein mit arteigenem Leberautolysat intraperitoneal gespritztes Meerschweinchen 11 Tage später zugrunde ging, ein anderes ebenso behandeltes aber überlebte. Die Toxizität der von Garnier und Bory (l. c.) dargestellten Kaninchenleberautolysate kann nur als relativ schwache bezeichnet werden, da ein Extrakt aus 16,5 g autolysierter Leber (pro Kilogramm Kaninchen intravenös injiziert) überhaupt keine Wirkung und erst ein solcher aus 19,4 g eine tödliche Vergiftung hervorrief. Nur Conradi (l. c.) erzielte schon mit verhältnismäßig sehr geringen Mengen von verschiedenen Leberautolysaten bei 13 (von 16 damit intravenös gespritzten) Kaninchen eine tödliche Wirkung, die — oft unter Krämpfen — entweder sofort oder $^1/_2$ bzw. $1^1/_2$, $2^1/_2$, 10, 24 Stunden nach der Injektion eintrat. Dabei war es im allgemeinen gleichgültig für die Wirkung, ob den Tieren arteigenes oder Hunde- bzw. Rinderleberautolysat injiziert wurde.

Nach den Ergebnissen aller dieser Arbeiten kann es also keinem Zweifel unterliegen, daß im Verlaufe autolytischer Prozesse und in ursächlichem Zusammenhang mit ihnen in verschiedenen Organen Produkte entstehen, die nicht nur mit dem Blut und den Geweben artgleicher Tiere charakteristische biologische Reaktionen eingehen, sondern auch imstande sind, in den Ablauf der wichtigsten Lebensvorgänge entscheidend und bisweilen sogar deletär einzugreifen. Es kann nun für die Frage nach der vitalen Bedeutung der Autolyse keineswegs gleichgültig sein, ob diese toxischen Wirkungen für die Autolysate spezifische sind oder auch anderen durch rein chemische oder fermentative Umsetzungen gebildeten Spaltungsprodukten zukommen. Es handelt sich hier insbesondere um die Frage, ob auch hydrolytische, peptische, tryptische oder sonstwie dargestellte Organeiweißderivate toxisch wirken können.

In dieser Hinsicht zeigten Bierry, Pettit und Schaeffer[1]), daß sich durch intraperitoneale Einverleibung von Hundelebernukleoproteiden und -nukleinen bei Kaninchen „hepatotoxische" Sera gewinnen ließen, die ihrerseits wieder bei Hunden histologische Veränderungen der Leber erzeugten. Durch $^3/_4$ Stunden lange Digestion von Hundeleber im Autoklaven bei 120° erhielt Doyon[2]) einen Saft, der

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 566, 1907.
[2]) Compt. rend. Soc. Biol. 72, 464, 1912.

— zentrifugiert und dann Hunden intravenös injiziert — beträchtliche Blutdrucksenkung hervorrief. Roger[1]) digerierte Muskeln und Leber von Kaninchen teils mit 3 bis 4%iger, teils mit 15%iger Schwefelsäure 20 Stunden lang im Autoklaven bei 120°. Die mit schwacher Säure bereiteten Flüssigkeiten enthielten hauptsächlich Peptone und gaben starke Biuretreaktion, die mit starker Säure hergestellten dagegen nicht. Im Tierversuch zeigte sich nun das interessante Verhalten, daß die abiureten Flüssigkeiten auf Kaninchen fast gar nicht toxisch wirkten, wohl aber die peptonhaltigen Muskel- und Leberextrakte, nach deren intravenöser Einverleibung Kaninchen in wenigen Minuten unter Krämpfen zugrunde gingen. Ebenfalls durch Säurehydrolyse gewonnene Produkte benutzten Pick und Spiro[2]) zu ihren Versuchen. Sie erhielten aus verschiedenen Organen durch ausschließliche Behandlung mit Säure Präparate, die deutlich gerinnungshemmend wirkten und dabei nur Spuren von Albumosen und Peptonen enthielten. Ferner digerierten sie Rinderleber nur mit Verdauungssalzsäure (ohne Pepsin) $1^1/_2$ Tage lang bei 40°. Die so bereitete Flüssigkeit, die nur abiurete Spaltprodukte enthielt, löste — einem Hunde intravenös injiziert — keinerlei Vergiftungssymptome aus, während ein Kaninchen durch Injektion der entsprechenden Menge in wenigen Minuten getötet wurde. Erfahrungen über den Einfluß langdauernder Pepsin- und Trypsinverdauung auf die biologischen Eigenschaften von Organeiweiß sammelten Wissmann[3]) sowie Heim[4]). W. prüfte peptische und tryptische Verdauungsprodukte von Rinderlinsen auf präcipitogene Substanzen gegen Serum von mit Rinderlinsen vorbehandelten Kaninchen, wobei sich ergab, daß selbst langdauernde Einwirkung von Verdauungsfermenten die präcipitogenen Substanzen nicht zu zerstören vermochte. Durch die Versuche Heims, der Kaninchenmuskeln und -leber zuerst 10 Tage lang mit Pepsin und darauf noch 16 Tage lang mit Pankreatin verdaute und die so gewonnenen Präparate Mäusen subcutan injizierte, konnte die Unschädlichkeit artfremder Organverdauungsprodukte nachgewiesen werden. Diesen Befund konnten allerdings Schittenhelm und Ströbel[5]) für artgleiche peptische Organverdauungsprodukte ebensowenig bestätigen wie Camus und Gley[6]). Schittenhelm und Ströbel beobachteten bei Meerschweinchen typische anaphylaktische Erscheinungen nach Injektion von Flüssigkeiten, die sie durch kurzdauernde Verdauung von Meerschweinchenblutkörperchen, -leber, -niere, -pankreas mit Hundemagensaft erhalten hatten. Camus und Gley spritzten 4 Hunde intravenös mit Verdauungslösungen, die durch 48stündige Digestion von Hundemuskeln mit salzsaurer Hundemagen-

[1]) Journ. de physiol. et de pathol. génér. **11**, 425 ff., 1909.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 235 ff., 1900/01.
[3]) Arch. f. Ophthalm. **71**, 150, 1909.
[4]) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Refer. **47**, Beiheft, 81, 1910.
[5]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **11**, 108, 1912.
[6]) Arch. internat. de physiol. **2**, 64 ff., 1904/05.

schleimhautmaceration gewonnen worden waren, und beobachteten danach bei 2 Tieren deutliche Vergiftungssymptome mit darauffolgender Erholung, bei den beiden anderen aber tödlichen Ausgang.

Toxische Eigenschaften und Wirkungen auf artgleiche Tiere müssen also den Produkten nicht nur der autolytischen, sondern auch der hydrolytischen, peptischen und tryptischen Spaltung des Organeiweißes beigelegt werden. Alle diese nichtautolytischen Produkte stellen aber teils nichts als künstliche Laboratoriumspräparate, teils solche Substanzen dar, die als Faktoren im normalen Ablauf des physiologischen Geschehens nur unter der nirgendwo bewiesenen Voraussetzung in Betracht kommen könnten, daß peptische und tryptische Fermente aus dem Darmkanal in die Organe gelangen und hier ihre eiweißspaltende Tätigkeit wieder aufnehmen. Wie man den nichtautolytischen Organprodukten trotz ihrer experimentell nachgewiesenen biologischen Wirkungen jede vitale Bedeutung absprechen kann, so wird man auch geneigt sein, den autolytischen Organeiweißderivaten, die — gleich jenen — toxische Eigenschaften aufweisen, nur eine bescheidene oder überhaupt keine Rolle im Spiel der Lebensvorgänge zuzuteilen. Und dazu wird man um so eher geneigt sein, als die Annahme paradox erscheint, daß sich im normalen tierischen Stoffwechsel dauernd und regelmäßig durch autolytische Prozesse autotoxische Stoffe bilden sollten. Daß aber diese Annahme in der Tat zulässig ist, und daß gerade auch durch wiederholte parenterale Aufnahme von arteigenem Organeiweiß Vergiftungserscheinungen ausgelöst werden können, dafür mangelt es nicht an Belegen.

So werden nach Busson[1]) Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit arteigenen Organextrakten empfänglicher für die Giftwirkung einer nach 24 bis 48 Stunden vorgenommenen Reinjektion der betreffenden Extrakte; so konnten Wolff-Eisner und Vertes[2]) Kaninchen und Meerschweinchen mit arteigener Leber-, Nieren-, Gehirn- und Hodensubstanz sensibilisieren und bei der Reinjektion schwere Überempfindlichkeitserscheinungen beobachten. Hertle und Pfeiffer[3]) gelang es, bei Meerschweinchen durch wiederholte Vorbehandlung mit arteigener Niere (z. B. auch durch Zertrümmerung einer Niere und Reposition des Gewebes) eine Überempfindlichkeit gegen die Reinjektion von Meer-

[1]) Centralbl. f. Bakt., Abt. I 65, Heft 1/3, S. 142, 1912.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 21.
[3]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. 10, 541, 1911.

schweinchenniere zu erzeugen. Analoge Beobachtungen machte Rossi[1]) bei Meerschweinchen (nicht bei Hunden), die mit artgleicher Gehirnemulsion intraperitoneal wiederholt vorbehandelt worden waren. Wie die künstliche Vorbehandlung mit arteigenen Organprodukten, so wirkt auch oft ihre natürliche physiologische Aufnahme sensibilisierend (Geßner[2]): Reaktion von Schwangeren und Wöchnerinnen auf subcutane Spermainjektionen; v. Dungern und Hirschfeld[3]): Reaktion trächtiger Kaninchen auf artgleiches Hodengewebe; Sellei[4]): Reaktion des Menschen auf subcutane Injektion von art- und individuumgleichen Haut- bzw. Prostataextrakten.

Demnach scheint die Möglichkeit einer Intoxikation durch wiederholte Einwirkung arteigener Produkte durchaus gegeben zu sein, und zwar einer Intoxikation mit dem Charakter der Überempfindlichkeit. Eine solche Überempfindlichkeit gegenüber arteigenen Organprodukten könnte — vom Standpunkte teleologischer Betrachtung — gerade als Beweißstück gegen die vitale Bedeutung der Autolyse angeführt werden, da — dieser Annahme zur Folge — der normale Organismus ja fortwährend wirksame autotoxische Stoffe produzieren würde. Diese anscheinend so unhaltbare Voraussetzung einer dauernden Autointoxikation gewinnt aber an innerer Wahrscheinlichkeit, sobald man sich den mächtigen Einfluß der immunisatorischen Kräfte, über die der normale Organismus verfügt, vergegenwärtigt. Daß diese immunisatorischen Kräfte auch den arteigenen Organprodukten gegenüber wirksam sind, bestätigen die Erfahrungen mehrerer Autoren.

Zwar fanden Dold und Ogata[5]) sowie Aronson[6]), daß die nach Beibringung untertödlicher Mengen arteigener Organextrakte auftretende Resistenzerhöhung gegen Reinjektion sonst letaler Dosen schon nach kurzer Zeit wieder verschwindet, doch ist die Konstatierung dieser Widerstandsfähigkeit immerhin von grundsätzlichem Werte. Ferner hat Bianchi (l. c.) durch wiederholte intravenöse Injektionen verschiedener Organextrakte eine Erhöhung der Widerstandskraft gegen diese toxischen Substanzen erzielt, und v. Bergmann[7]) sowie Joseph und Pringsheim[8]) gelang es, Hunde gegen die sonst stets tödlich wirkende

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 9, 652, 1911.
[2]) Centralbl. f. Gynäk. 1906, Nr. 28.
[3]) Zeitschr. f. Immunitätsf. 4, 257, 1909.
[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 40.
[5]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. 13, 667, 1912.
[6]) Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 6.
[7]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 3, 401, 1906.
[8]) Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 26, Heft 2, 1913.

intraperitoneale Einverleibung arteigener Pankreassubstanz zu immunisieren. Delezenne[1]) konnte durch wiederholte Injektionen von Hundeleberemulsionen bei Kaninchen deren Serum mit Stoffen anreichern, die in einmaliger großer Dosis Hunden beigebracht diese töteten, in wiederholten steigenden kleinen Mengen aber den Hunden hochgradige Immunität verliehen. Vielleicht sind auch die nach wiederholter Injektion bzw. spontaner Resorption arteigener Organprodukte nachgewiesenen „Autoantikörper" Halperns[2]) und „Autocytopräcipitine" Centannis[3]) als Immunsubstanzen gegen die Vergiftung mit artgleichem Organeiweiß aufzufassen.

Allerdings stellen alle diese Beweise für eine experimentelle Immunisierungsfähigkeit gegen arteigene Organprodukte nur vereinzelte Befunde dar, die vielleicht kaum als gelungene Nachahmungen, geschweige denn als getreue Abbilder physiologischer Vorgänge gelten können. Immerhin gestatten sie uns, den autolytischen Prozessen (ihrer autotoxischen Wirkungen wegen) nicht im voraus jede vitale Bedeutung abzusprechen; sie lassen uns vielmehr eine solche Bedeutung gerade wegen der biologischen Wirkungen der Autolysate und gerade deshalb als möglich erscheinen, weil die autolytischen Organprodukte überhaupt eine Reaktion im artgleichen tierischen Organismus auszulösen vermögen. Diese Reaktionsfähigkeit an sich freilich haben die autolytischen Produkte mit den nichtautolytischen, für den Tierkörper sicher bedeutungslosen gemein. Man wird deshalb, wenn man aus der biologischen Reaktionsfähigkeit der Autolyseprodukte auf ihre physiologische Bedeutung zu schließen wünscht, nicht nur die Qualität ihrer Toxizität, sondern auch etwaige quantitative Differenzen ihrer Giftwirkung (im Vergleich mit den nichtautolytischen Produkten) feststellen müssen. In bezug auf die toxischen Eigenschaften der autolytischen und nichtautolytischen Organprodukte liegt, wie wir gesehen haben, ein zwar umfangreiches, jedoch nicht prägnantes Beobachtungsmaterial vor, um daraus charakteristische, rein qualitative Unterscheidungsmerkmale zwischen beiden Arten von Organderivaten herleiten zu können. Ich hatte deshalb den Plan gefaßt, die quantitativen Verhältnisse der genannten Giftwirkungen mehr zu berücksichtigen und peptische, tryptische sowie autolytische Produkte eines Organes bei

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **131**, 427 bis 429.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **11**, 609, 1911.
[3]) Centralbl. f. Bakt., Orig. **35**, Nr. 1 bis 3, 1903.

artgleichen Tieren unter gleichen Versuchsbedingungen in relativ möglichst gleichdosierten Mengen an den Ausschlägen der gleichen biologischen Reaktion zu prüfen. Da nun heftige Intoxikationen mit schwerer Schädigung lebenswichtiger Funktionen und raschem katastrophalen Ausgang die Beobachtung feinerer Ausschläge von biologischen Reaktionen unmöglich zu machen pflegen, mußte die ganze Versuchsanordnung auf möglichst langsam und milde verlaufende Giftwirkungen eingestellt werden.

Es mußten also gewählt werden: 1. Produkte, durch deren Darstellungsmethode die Entstehung hochgiftiger Bestandteile ausgeschlossen wurde, 2. Organe mit möglichst geringer Eigengiftigkeit, 3. eine möglichst widerstandsfähige, jedoch nicht unempfindliche Tierart, 4. eine möglichst schonende Methode der parenteralen Einverleibung, 5. möglichst kleine wirksame Dosen der toxischen Substanzen, 6. eine möglichst leicht auslösbare, exakt zu beobachtende, aber ohne erhebliche Störung lebenswichtiger Funktionen ablaufende biologische Reaktion.

Zu 1.: Die als Ausgangsmaterial dienenden Organe werden dem soeben getöteten Tiere entnommen und, ohne sie vorher blutfrei zu waschen, sofort weiter verarbeitet. Über den Nutzen bzw. Schaden der Auswaschung bemerkt Ohkubo[1]), daß seine zur Sensibilisierung verwendeten Organextrakte nicht mehr imstande waren, bei späterer Reinjektion anaphylaktische Symptome hervorzurufen, wenn er sie vorher durch Auswaschung von allen Blutbestandteilen befreit hatte, während Izar und Patané[2]) gerade aus blutleergewaschenen Lungen giftigere Extrakte erhielten als aus bluthaltigen. Ferner werden die für die Pepsin- und Trypsinverdauung bestimmten Portionen des Organbreies zuvor etwa 5 Minuten lang mit Wasser gekocht — einmal, um die autolytischen Fermente und die (nach Loeper und Esmonet[3]) pepsin- und trypsinhemmenden Eigenschaften der frischen Lebersubstanz unwirksam zu machen, dann aber auch, um die Eigentoxizität der Organextrakte durch Erhitzung abzuschwächen, da diese entgiftende Wirkung höherer Temperaturen von fast allen Autoren übereinstimmend bestätigt wurde. (Aronson; Bianchi; Dold; Friedemann; Mairet und Vires; Perusia[4]); Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen[5]); Wells[6]). Auch

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **6**, 176, 1910.
[2]) Ibidem, Orig. **14**, 448, 1912.
[3]) Compt. rend. Soc. Biol. **64**, 585.
[4]) Pathologica **4**, Nr. 95. Referat: Berl. klin. Wochenschr. **1913**, 742.
[5]) Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt **36**, 465, 1911.
[6]) The Journ. of Inf. Dis. **5**, 4, 1908. Referat: Weichhardts Jahresber. **4**, 585, 1908.

die nach beendigter Digestion vorgenommene Fällung und weitere Behandlung mit Alkohol trug zur Gewinnung möglichst wenig giftiger Produkte bei — entsprechend den Erfahrungen von Camus und Gley; Fiquet[1]); Friedemann; Pick und Spiro; Salkowski[2]); Wells.

Zu 2.: Als Ausgangsmaterial für die Darstellung der Organprodukte werden ausschließlich Kaninchenlebern verwendet — in Übereinstimmung mit Aronson, Busson, Friedberger, Stühmer, die gerade aus Leber die am wenigsten toxischen Extrakte gewannen, sowie in Übereinstimmung mit Lederer und Pfibram, Contejean, Fukuhara, die nach Einverleibung arteigener Leberextrakte keine schweren Vergiftungserscheinungen beobachteten.

Zu 3.: Da — aus äußeren Gründen — als Versuchstiere für mich nur Kaninchen oder Meerschweinchen in Betracht kamen, entschied ich mich für Kaninchen — mit Rücksicht darauf, daß eine Reihe von Autoren (u. a. Hartoch und Ssirensky, Rossi, Schittenhelm und Ströbel) gerade bei Meerschweinchen besonders heftige Reaktionen auf Einführung arteigener Organprodukte feststellten.

Zu 4.: Da — wie Busson, Dold, Fellner, Hartoch und Ssirensky für arteigene Organprodukte noch besonders bestätigten — bei intravenöser Einverleibung der schwerste und stürmischste Verlauf der Intoxikationen zu erwarten war, wurden die subcutanen Injektionen besonders berücksichtigt. Allerdings ist bemerkenswert, daß in älteren Arbeiten auch Beobachtungen über starke Giftwirkungen gerade subcutan injizierter Organextrakte verzeichnet sind (Brown-Séquard und D'Arsonval[3]) sowie Brieger und Uhlenhuth[4]).

Zu 5.: Hinsichtlich der einzuführenden Organproduktmengen habe ich in der Literatur keine Anhaltspunkte für die Dosierung meiner trockenen Präparate finden können. In Anbetracht des albumosen- bzw. peptonartigen Charakters der Produkte habe ich aber die Angaben von Biedl und Kraus[5]) sowie Popielski[6]) berücksichtigt, daß schon Dosen von 0,03 bzw. 0,05 g Witte-Pepton pro Kilogramm Hund, intravenös injiziert, Vergiftungssymptome auslösen, während die Intoxikationserscheinungen nach 0,3 pro Kilogramm am prägnantesten hervortreten und nach 0,5 pro Kilogramm einen tödlichen Ausgang nehmen. Mit Bezug auf subcutane Injektionen war aber zu beachten, daß nach Salkowski[7]) mitunter ganz enorme Mengen von Albumosen und Peptonen (aus Fibrin durch Pepsin- bzw. Pankreasverdauung gewonnen) von Kaninchen ohne erhebliche Störungen vertragen werden.

Zu 6.: Die Wahl einer geeigneten biologischen Reaktion war nicht

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **49**, 459, 1897.
[2]) Virchows Arch. **124**, Heft 3, S. 409ff., 1891.
[3]) Arch. de Physiol., 5. Série, **4**, 156, 1892.
[4]) Deutsche med. Wochenschr. **1898**, Nr. 10 und 11.
[5]) Wiener klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 11.
[6]) Arch. f. d. ges. Physiol. **126**, 483ff., 1909.
[7]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. **1895**, Nr. 31.

unabhängig von der Deutung, die den Beziehungen zwischen Organproduktvergiftung und Anaphylaxie gegeben werden muß. In dieser Hinsicht vertreten verschiedene Autoren die Anschauung, daß beide Zustände keineswegs wesensgleich seien und eine Identifizierung von Organgiften mit dem Anaphylaxietoxin abgelehnt werden müsse. Zur Begründung dieser Auffassung betont Busson (l. c.) die Verschiedenheit der pathologisch-anatomischen Befunde und verweisen u. a. Dold und Ogata (l. c.) sowie Friedberger (l. c.) auf charakteristische Unterschiede einzelner Vergiftungserscheinungen, so besonders in jüngster Zeit noch Leschke[1]) auf den Unterschied zwischen der ausgesprochenen Wirkung des anaphylaktischen Giftes und der nur geringfügigen der Organextrakte auf die Temperatur. Jedoch ist nach Ohkubo (l. c) der durch Organprodukte hervorgerufene anaphylaktische Zustand nur durch die in den Organen enthaltenen Serummengen bedingt, wie auch Ranzi[2]) — im Gegensatz zu Pfeiffer[3]) sowie Minet und Bruyant[4]) — die Organspezifität der Organextraktanaphylaxie bestreitet. Ungeachtet ihrer theoretischen Anschauungen betonen aber viele Beobachter (u. a. besonders Aronson[5]) und Bianchi[6]) die große Ähnlichkeit des anaphylaktischen Syptomenkomplexes mit den klinischen Erscheinungen der Organproduktvergiftung. Da nun nach Friedberger und Mita[7]) sowie Mita[8]) die Fieberreaktion „nicht nur das empfindlichste, sondern auch das einzig objektive und meßbare Symptom" der Überempfindlichkeit darstellt und nach Friedemann zur Feststellung auch nur geringfügiger anaphylaktischer Erscheinungen besonders geeignet ist, entschied ich mich dafür, an den Temperaturbewegungen meiner Kaninchen den Grad ihrer Reaktion auf die Organproduktvergiftung zu messen. Dabei durfte aber eine Fehlerquelle nicht übersehen werden — das Salzfieber der Kaninchen, mit dem ich in Anbetracht des bei meiner Darstellung nicht ganz zu eliminierenden, teilweise sogar ziemlich hohen Aschegehaltes der Präparate zu rechnen hatte. Daß bei Meerschweinchen bzw. Kaninchen durch intraperitoneale bzw. intravenöse Einverleibung von Salzlösungen sich leicht Temperaturschwankungen hervorrufen lassen, haben in neuerer Zeit erst wieder Thiele und Embleton[9]) sowie Davidsohn und Friedemann[10]), H. Freund[11]), Widerœ[12]) festgestellt. Bei

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **14**, Heft 1, 1913.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **2**, Heft 1, 1909.
[3]) Ibidem **8**, 358, 1911.
[4]) Compt. rend. Soc. Biol **71**, 166, 1911.
[5]) Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. **14**.
[6]) Arch. di Farmacol. **13**, 1912. Referat: Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Refer. **6**, Heft 8, 716, 1912.
[7]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig. **10**, 216, 1911.
[8]) Ibidem **5**, 335, 1910.
[9]) Ibidem **16**, 178, 1913.
[10]) Arch. f. Hygiene **71**, 9, 1909.
[11]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 225, 1911.
[12]) Beiträge z. klin. Chir. **77**, 126, 1912.

intravenöser Injektion beobachtete z. B. Freund unter 100 Kaninchen von etwa 2 kg, die er mit je 20 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung gespritzt hatte, bei 88 Temperatursteigerungen von 0,8° und mehr. Wideroe konstatierte bei Kaninchen, die mit $^1/_2$% ihres Körpergewichtes 0,9%iger Kochsalzlösung intravenös gespritzt worden waren, meist nur geringe Temperaturerhöhungen bis um 0,5° und selbst nach Verabreichung von 5% des Körpergewichtes physiologischer Kochsalzlösung nur Steigerungen um durchschnittlich 1°. Auch Davidsohn und Friedemann fanden bei ihren Kaninchen, daß verhältnismäßig große Salzmengen erforderlich sind, um auf intravenösem Wege Fieber zu erzielen, und zwar auffallenderweise größere Mengen, als bei subcutaner Einführung angewendet werden mußten. Da Davidsohn und Friedemann als geringste wirksame Dosis, um auf subcutanem Wege Temperatursteigerungen zu erzielen, 5 ccm 0,75%iger Kochsalzlösung pro Kilogramm Kaninchen ermittelten, habe ich meine Versuchstiere am Tage vor der eigentlichen Injektion des Organproduktes stets mit durchschnittlich 5 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung pro Kilogramm subcutan bzw. intravenös gespritzt, um ihre Reaktionsfähigkeit zum Salzfieber mit Rücksicht auf den Aschegehalt der Präparate zu erproben. (Temperatursteigerungen bis 0,5° am Tage der Kochsalzinjektion sind in den Tabellen mit „normal" bezeichnet, alle Temperaturabfälle und die Steigerungen um mehr als 0,5° sind besonders verzeichnet, während durch einen Strich (—) ausgedrückt werden soll, daß die Tiere zwar mit Kochsalzlösung gespritzt, beobachtet und in bezug auf die absolute Höhe der Tagestemperatur als normal und fieberfrei befunden wurden, jedoch die Temperaturdifferenz nicht bestimmt wurde.)

Hinsichtlich des Einflusses, den die Konzentration, das Volumen und der osmotische Druck der injizierten Salzlösung auf den Ausfall der Fieberreaktion ausüben, scheinen die Meinungen auseinanderzugehen, da Davidsohn und Friedemann (l. c.) sowie Bingel[1]) die obengenannten Faktoren nicht hoch bewerten und nur dem absoluten Salzgehalt eine Bedeutung beilegen, während Friedberger und Ito[2]) auch eine Abhängigkeit der Temperaturschwankung von der relativen Konzentration, der Menge und Isotonie der eingeführten Salzlösung feststellen konnten.

Unter möglicht weitgehender Rücksichtnahme auf die angeführten sechs Punkte gestaltete sich nun die Versuchsanordnung folgendermaßen:

Es wurden mehrere gesunde, erwachsene, gut genährte Kaninchen durch Genickschlag und Halsschnitt getötet. Unmittelbar darauf wurden die Lebern entnommen, von den Gallenblasen befreit und zu feinem Brei gehackt. Von dem Brei

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 1, 1911.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **15**, 303, 1912.

wurden drei Portionen abgewogen. Die eine Portion wurde mit Wasser 5 Minuten lang gekocht. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser zum achtfachen Volumen des Leberportionsgewichtes aufgefüllt, 0,5% der Gesamtmenge Chloroform und 1 g Pankreatin „Merck" zugefügt, schließlich mit Na_2CO_3 bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt. Die zweite Portion des Leberbreies wurde ebenso lange mit Wasser gekocht. Nach dem Erkalten wurde mit künstlichem Magensaft (bereitet aus 2 g Pepsin „Finzelberg" mit Verdauungssalzsäure) und Verdauungssalzsäure zum achtfachen Volumen des Leberportionsgewichtes aufgefüllt und noch mit 0,5% der Gesamtmenge Chloroform versetzt. Die dritte Portion des Leberbreies wurde mit dem zehnfachen Volumen (ihres Gewichtes) Wasser unter Zufügung von 0,5% der Gesamtmenge Chloroform zur Autolyse angesetzt, nachdem noch, um eine Übereinstimmung mit dem Albumosegehalt des tryptischen Verdauungsgemisches herzustellen, 1 g (zuvor gekochten) Pankreatin zugesetzt worden war.

Alle 3 Mischungen wurden 72 Stunden lang — unter häufigem Umschütteln — bei 38 bis 40° im Thermostaten digeriert. Nach beendigter Digestion wurden das peptische und das pankreatische Verdauungsgemisch genau mit Na_2CO_3 bzw. HCl neutralisiert und, ebenso wie das autolytische, bei ganz schwach essigsaurer Reaktion aufgekocht und nach dem Erkalten filtriert. Alle 3 Filtrate wurden auf dem Wasserbade bis auf etwa je 50 ccm eingeengt und dann durch langsames Eingießen in das sechsfache Volumen absoluten Alkohols gefällt. Die Niederschläge blieben, unter wiederholter Erneuerung des Alkohols, mehrere Tage in verschlossenen Gefäßen unter Alkohol, wurden dann abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen, verrieben und zur späteren Verwendung aufbewahrt. (Dabei ist zu bemerken, daß die Darstellung der Präparate, wenn das Material verbraucht war, nach Bedarf wiederholt werden mußte. Es wurden aber stets die eben beschriebenen Versuchsbedingungen genau eingehalten. Gleichwohl waren nicht geringe Verschiedenheiten im Aschegehalt einzelner Präparate ein und derselben Gattung zu verzeichnen.) Es resultierten in allen drei Fällen graubräunliche, sehr hygroskopische Pulver, die sich in kaltem Wasser glatt lösten. Die Lösungen gaben bei dem tryptischen und peptischen Verdauungsprodukt deutliche Biuretreaktion,

nicht dagegen bei dem autolytischen Produkt. Der Aschegehalt bei 2 Präparaten des tryptischen Produktes betrug 7,33% bzw. 6,89%; bei 2 Präparaten des peptischen 4,31% bzw. 5,94%; bei 3 Präparaten des autolytischen Produktes 20,73% bzw. 19,79% bzw. 17,03%. Um den hohen Aschegehalt des autolytischen Produktes, der bei Einführung größerer Mengen in einigen Tierversuchen Grund zur Beanstandung geben konnte, herabzusetzen, wurden 2 Präparate dieses Produktes 48 Stunden bzw. 4 Tage lang unter antiseptischen Kautelen gegen Wasser dialysiert, dann nochmals mit Alkohol gefällt und mit Alkohol und Äther gewaschen. In diesen Fällen resultierten zwei autolytische Produkte, die nicht mehr trockene Pulver, sondern dickflüssige, schmierige, dunkelbraune Massen darstellten. Der Aschegehalt dieser Präparate betrug 12,26% bzw. 9,94%. Auch diese Präparate gaben keine Biuretreaktion.

Die für die Injektionen bestimmten Substanzen wurden vorher bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, und zwar entweder im Vakuum über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur oder derart, daß fast gleichzeitig ein größeres (zur Injektion bestimmtes) und ein kleineres (nur für die Trocknung bestimmtes) Quantum abgewogen wurden; das kleinere wurde bei 105° zur Gewichtskonstanz getrocknet, das größere — nach Berechnung seines Wassergehaltes — in sterilisiertem Wasser gelöst und für den Tierversuch verwendet. Hier sei ausdrücklich erwähnt, daß — mit Ausnahme der 7 Wiederholungsversuche, 4, 5, 6. 21, 22, 33, 34 — für jede Injektion ein gesundes, zuvor noch nicht gebrauchtes Tier ausgewählt wurde.

Für die Bewertung der in den Tabellen verzeichneten Befunde, insbesondere der Temperaturmessungen, die übrigens stets im Rektum bei gleichmäßiger Einführung des Thermometers vorgenommen und erst nach beendigtem Steigen des Quecksilberfadens abgelesen wurden, ist zunächst zu beachten, daß die meisten Beobachter die normale Temperatur des Kaninchens zu 39 bis 40° angeben [u. a. Krehl[1]), Davidsohn und Friedemann (l. c.), Simpson und Galbraith[2])]. Nach Davidsohn und Friedemann sowie Simpson und Galbraith betragen die normalen Tagesschwankungen 0,5 bis 0,7° bzw.

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 226.

[2]) The Journ. of Physiol. **33**, 225, 1905/06.

0,7 bis 1° bei 2 bzw. 3stündlicher Messung, wobei allerdings die Ernährungs- resp. Fütterungsverhältnisse eine gewisse Rolle spielen, da nach H. Freund (l. c.) und Em. Krauß[1]) nicht gefütterte Tiere niedrigere absolute Temperaturen bzw. kleinere Tagesschwankungen zeigten. Als pathologisch in jedem Falle bezeichnen Davidsohn und Friedemann Temperaturen über 40° sowie Tagesdifferenzen von mehr als 0,9°, auch wenn das Temperaturmaximum unter 40° liegt — vorausgesetzt, daß 2stündlich gemessen wird; bei 3stündlicher oder noch seltenerer Messung ist das Augenmerk mehr auf das Temperaturmaximum als auf die Differenz zu richten. Da auch Simpson und Galbraith, wie erwähnt, bei gesunden Kaninchen 24stündige Tagesdifferenzen von 1° beobachteten, werde ich bei der Besprechung meiner Versuchsergebnisse als pathologische Veränderungen bezeichnen: 1. das Auftreten von Temperaturen über 40°, 2. Temperatursteigerungen von 1° und mehr, 3. Temperaturabfälle von 0,5° und mehr — aber nur unter der Voraussetzung, daß der Vergleich mit dem Temperaturverlauf am Tage der vorbereitenden Kochsalzinjektion diese Veränderungen als wirklich pathognomonische und nicht als einfache Reaktionen des Tieres auf die Injektionen an sich und ihren Aschegehalt erweist.

Wenn man nun unter Beobachtung der angeführten Normen und Voraussetzungen die Tabellen I bis IX zunächst nur auf pathologische Veränderungen der Körpertemperatur durchmustert, so lassen sich folgende Befunde feststellen:

I. Bei subcutaner Einführung arteigener, alkoholunlöslicher Leberprodukte traten pathologische Veränderungen der Körpertemperatur ein

a) nach Injektion von durchschnittlich 0,181 g pro 1 kg:

1mal unter 3 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
2 „ „ 2 „ „ „ peptischen „
1 „ „ 2 „ „ „ autolytischen „

b) nach Injektion von durchschnittlich 0,181 g pro 1 kg im Wiederolungsfalle (1 bis 2 Tage nach den Injektionen Ia):

1mal unter 3 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
1 „ „ 2 „ „ „ peptischen „
1 „ „ 2 „ „ „ autolytischen „

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 97, 1913.

c) nach Injektion von durchschnittlich 0,362 g pro 1 kg:

0mal unter 2 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
1 „ „ 2 „ „ „ peptischen „
1 „ „ 3 „ „ „ autolytischen „

d) nach Erhöhung der Injektionsdosis Ic um das 1,6fache:

2mal unter 2 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
2 „ „ 2 „ „ „ peptischen „

1,4 bzw. 1,6fache:

0mal unter 3 Versuchen mit dem autolytischen Produkt;

e) nach Erhöhung der Injektionsdosis Ic um das 2,1fache:

1mal bei 1 Versuch mit dem tryptischen Produkt
1 „ „ 1 „ „ „ peptischen „

aber im letzten Falle in sehr geringem Grade.

II. Bei intravenöser Einführung arteigener, alkoholunlöslicher Leberprodukte traten pathologische Veränderungen der Körpertemperatur ein

a) nach Injektion von durchschnittlich 0,182 g pro 1 kg:

1mal unter 3 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
0 „ „ 2 „ „ „ peptischen „
0 „ „ 2 „ „ „ autolytischen „

b) nach Injektion von durchschnittlich 0,467 g pro 1 kg:

1mal unter 2 Versuchen mit dem tryptischen Produkt
0 „ bei 1 Versuch „ „ peptischen „
1 „ „ 1 „ „ „ autolytischen „

c) nach Injektion von 0,931 g pro 1 kg:

1mal unter 2 Versuchen mit dem tryptischen Produkt.

Um bei der Besprechung vorstehender Befunde die 7 Versuche von wiederholter subcutaner Injektion vorwegzunehmen, ist zu bemerken, daß die Tiere, die die erste Einführung der Leberprodukte mit einer pathologischen Temperaturveränderung beantworteten, auf die nochmalige Verabfolgung der gleichen Dosis teils positiv, teils negativ reagierten, daß aber auch (wie in den Versuchen Nr. 1 und 4) das umgekehrte Verhalten (d. h. negative Reaktion nach der ersten Injektion und positive nach der zweiten) vorkommen kann. Jedenfalls sind die hier erhobenen Befunde nicht charakteristisch und gleichmäßig genug, um aus ihnen irgendwelche Schlüsse für oder wider den immu-

nisierenden bzw. sensibilisierenden Einfluß arteigener Organprodukte ziehen zu können.

Hinsichtlich der Bedeutung, die die Art der Einverleibung für die Wirkung der Organprodukte hatte, hat sich gezeigt, daß das tryptische Produkt sowohl bei subcutaner als auch intravenöser Einführung in kleinen, größeren und hohen Gaben (jedoch bemerkenswerterweise nicht in der mittleren Dosis von durchschnittlich 0,362 g pro 1 kg bei subcutaner Injektion) pathologische Temperaturveränderungen hervorrufen konnte. Das peptische Produkt bewirkte diese Veränderungen, wenn es subcutan in kleinen, mittleren, größeren und hohen Dosen eingespritzt wurde; ließ sie aber vermissen, wenn es in kleinen oder größeren Mengen intravenös verabreicht wurde — ein immerhin auffallendes Verhalten, das an die schon erwähnten Beobachtungen von Brown-Séquard und d'Arsonval über die Giftwirkung von Lungenextrakten sowie an die von Bouchard[1]) über Harntoxizität erinnert. Das autolytische Produkt erzeugte pathologische Temperaturveränderungen nur nach subcutaner Injektion kleiner und mittlerer Dosen, nicht aber nach Einführung etwas größerer Mengen unter die Haut, während es umgekehrt bei intravenöser Einverleibung in kleinen Gaben gar nicht, wohl aber in größeren temperatursteigernd wirkte.

An die Besprechung der Wirkungsweise der alkoholunlöslichen Organprodukte sei zunächst die Erörterung der Befunde angeschlossen, die ich bei den Versuchen mit den entsprechenden alkohol- und ätherlöslichen Produkten (Tabellen VIII und IX) erheben konnte. (Die für diese Versuche benutzten Präparate wurden dadurch erhalten, daß die von der Darstellung der alkohollöslichen Produkte herstammenden alkoholischen und ätherischen Flüssigkeiten auf dem Dampfbade von Alkohol und Äther befreit und die Rückstände in Wasser gelöst und filtriert wurden. Die so gewonnenen Injektionsflüssigkeiten, deren Gehalt durch Trocknung im Vakuum bei Zimmertemperatur und deren Asche nach dem Glühen dieses Trockenrückstandes an aliquoten Portionen bestimmt wurden, stellten gelbliche, nicht völlig klare Lösungen von

[1]) Leçons sur les auto-intoxications dans les maladies. Paris 1887, S. 27, 28.

deutlich saurer Reaktion dar, die mit Phosphorwolframsäure mehr oder weniger starke Fällungen gaben. Die Lösung des von der peptischen Leberverdauung herstammenden Präparates gab starke Biuretreaktion, die Lösungen des tryptischen und des autolytischen Produktes dagegen nicht.) Wie aus den Tabellen VIII und IX ersichtlich, waren

III. die arteigenen, alkohol- und ätherlöslichen Leberprodukte weder bei subcutaner noch bei intravenöser Einführung imstande, in Dosen von durchschnittlich 0,37 g pro 1 kg einwandfrei feststellbare pathologische Temperaturveränderungen hervorzurufen.

Diese Wirkungslosigkeit der alkohol- und ätherlöslichen Produkte steht im Einklang mit den Befunden von Stühmer und besonders von Gangolphe und Courmont (l. c.), die aus arteigenen „nekrobiotischen" Organteilen sowohl alkohollösliche wie auch -unlösliche Produkte darstellten, aber nur bei den alkoholunlöslichen temperatursteigernde Wirkungen beobachteten. Allerdings sei hier nicht verschwiegen, daß sich in der Literatur auch Beobachtungen finden, die für eine besondere Toxizität gerade der alkohol- bzw. ätherlöslichen Organprodukte sprechen (Camus und Gley, Friedemann, Izar und Fagiuoli). Soweit die Toxizität der Organprodukte aber in pathologischen Temperaturveränderungen zum Ausdruck kommt, scheinen — meinen Befunden nach — die alkoholunlöslichen Produkte in erster Reihe wirksam zu sein.

Temperaturbeeinflussende Wirkungen sowohl nativer als auch fermentativ veränderter Produkte aus verschiedenen tierischen Organen sind auch sonst schon beobachtet worden. So fanden Aronson[1]) Temperatursturz bzw. -erniedrigung nach intravenöser Injektion arteigener frischer Meerschweinchenorganextrakte; Davidsohn und Friedemann (l. c.) beim Kaninchen und Spiethoff[2]) beim Menschen Fiebererscheinungen nach Einverleibung von arteigenem Blutserum; Vaughan, Cumming und Wright[3]) akutes Fieber nach intraperitonealer Injektion arteigener, gewaschener Blutkörperchen beim Kaninchen; Sellei (l. c.) Temperatursteigerungen beim Menschen nach subcutaner Einführung körpereigener und körperfremder menschlicher Haut- und Prostataprodukte; Leschke[4]) beim Kaninchen

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 6.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 10.
[3]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 9, 458, 1911.
[4]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 14, Heft 1, 1913.

nach intravenöser Einführung artgleicher frischer Lungenextrakte geringen Temperaturanstieg bzw. -abfall, wenn kleine oder aber untertödliche Dosen verabreicht wurden; Izar[1]) ebenfalls Temperaturschwankungen bei Kaninchen nach intravenöser Injektion artgleicher Lungenextrakte; Rouquès[2]) sowie Mairet und Vires (l. c.) beim Kaninchen, ebenso Bauer und Wüsthoff (l. c.) beim Meerschweinchen Temperaturveränderungen nach intravenöser Einführung arteigener frischer Leberextrakte. Mehr noch interessieren einige Beobachtungen, die sich auf die temperaturbeeinflussende Wirkung von Organverdauungsprodukten bzw. autolysatähnlichen Substanzen beziehen. Hierhin gehören die Arbeiten von Hartoch und Ssirensky (l. c.), die pankreatische Verdauungsprodukte (aus Pferdeserum mit Hundepankreassaft bereitet) Meerschweinchen intravenös injizierten und sowohl temperatursteigernde als auch -herabsetzende Wirkungen feststellten; von Schittenhelm und Ströbel[3]), die bei Meerschweinchen nach parenteraler Einverleibung arteigener Pepsinverdauungsprodukte (aus Leber, Niere und Pankreas gewonnen) bedeutenden Temperaturabfall mit darauffolgendem Wiederanstieg beobachteten; von Gangolphe und Courmont (l. c.), die, wie schon erwähnt, bei Böcken durch Ligatur der Samenstränge eine „Nekrobiose" des Scrotuminhaltes erzeugten und dann — sowohl als Folge natürlicher Resorption wie auch als Wirkung experimenteller Einführung der Nekroseprodukte — bei artgleichen und artfremden Tieren Temperatursteigerungen feststellen konnten; eine ähnliche Deutung, nämlich als Giftwirkung resorbierter Nekroseprodukte, kommt vielleicht auch den Versuchen H. Pfeiffers[4]) zu, der bei Meerschweinchen, Mäusen und Kaninchen nach Hautverbrühungen — je nach der Schwere der Schädigung — entweder gewaltige Temperaturstürze oder Abfälle mit folgendem Wiederanstieg oder einfache Steigerungen der Temperatur beobachtete.

Von den Versuchsergebnissen der hier genannten Autoren können eigentlich nur die von Schittenhelm und Ströbel mit meinen Befunden in Parallele gesetzt werden, und zwar mit den pathologischen Temperaturveränderungen, die ich nach Einführung peptischer Verdauungsprodukte aus arteigenen Lebern beobachtet habe. Die anderen Arbeiten kommen für diese Parallele nicht recht in Betracht, weil es sich in ihnen entweder um Wirkungen fermentativ unbeeinflußter Organbestandteile handelt oder um artfremde Verdauungsprodukte oder um ein Material, das — wie die Substanzen des nekrotischen

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 16, 557, 1913.
[2]) Zitiert nach Mairet et Vires, Arch. de Physiol. norm. et pathol. 9, 353, 1897.
[3]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1912, Heft 11, S. 108.
[4]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 18, Heft 1, 1913.

Gewebezerfalls — nicht ohne weiteres mit den Produkten der Organautolyse identifiziert werden kann. Soweit ich die Literatur übersehe, scheinen die temperaturbeeinflussenden Wirkungen arteigener tryptischer und autolytischer Organprodukte bisher noch nicht beobachtet und als Merkmale ihrer Toxizität festgestellt worden zu sein.

Unter den anderen Wirkungen der Organprodukte, die als Äußerungen ihrer Toxizität in Betracht kommen konnten, war es noch die Albuminurie, der ich bei meinen Versuchen regelmäßige Beachtung geschenkt habe, und zwar deshalb, weil das Auftreten dieser Anomalie nicht nur als Begleiterscheinung des experimentellen Fiebers, sondern auch als ein besonderes Symptom der Organproduktvergiftung zu erwarten war. Denn Lüdke und Schüller[1]) hatten bei Hunden durch intravenöse Injektion von arteigener Nierenemulsion Albuminurie von mehrtägiger Dauer erzeugt, M. Leube[2]) hatte bei Kaninchen die gleiche Wirkung durch intraperitoneale Einverleibung arteigener Leberemulsion erzielt und besonders Kapsenberg (l. c.) hatte bei Kaninchen durch subcutane und intravenöse Einführung von Emulsionen ihrer eigenen Lebersubstanz mehrfach Albuminurie hervorrufen können. Ich habe auch bei meinen Kaninchen die Ausscheidung von koagulierbarem Eiweiß mit dem Harn in 7 Fällen (unter 51 Einzelversuchen) beobachtet, und zwar bei

3	Kaninchen	unter	20	mit dem	tryptisch.	Produkt	injizierten
1	„	„	14	„	„	peptisch.	„	„
2	„	„	15	„	„	autolytisch.	„	„
1	„	„	2	„	„	Glykogen		„

Mit Bezug auf die Intensität, das Auftreten und die Dauer der Albuminurie ist zu bemerken, daß 1. stets nur Spuren von Eiweiß (mit der Salpetersäure-Kochprobe) nachgewiesen wurden; 2. die Eiweißausscheidung nach Einführung des tryptischen Produktes schon am Tage des eigentlichen Versuches, die nach Einführung des peptischen und autolytischen dagegen erst am Tage nachher festgestellt wurde; 3. die Albuminurie nur einen bzw. zwei Tage anhielt. Ferner erscheint bemerkenswert, daß das Auf-

[1]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. 108, 584, 1912.

[2]) Inaug.-Diss. Tübingen 1904.

treten der Albuminurie keineswegs immer von der Größe der injizierten Dosis und der Höhe der Temperatursteigerung abhängig war.

Weitere auffallende klinische Symptome und Vergiftungserscheinungen habe ich bei keinem der Kaninchenversuche beobachten können. Die Tiere wiesen vielmehr niemals — selbst nicht nach intravenöser Einführung verhältnismäßig recht beträchtlicher Mengen der Organprodukte — Zeichen schwerer Erkrankung auf.

Es war nun von Interesse zu prüfen, ob dieser offenbare Mangel schwerer toxischer Wirkungen, und besonders solcher mit stürmischem Verlauf und tödlichem Ausgange, nur auf die Artgleichheit des verwendeten Organmaterials und der benutzten Versuchstiere zurückzuführen war, und ob etwa an artfremden Versuchstieren die bisher vermißten foudroyanten Symptome der akuten Organproduktvergiftung deutlicher in die Erscheinung treten würden. Die Aussichten auf diesen Ausgang der Versuche waren allerdings nicht besonders günstig. Denn eine Reihe von Autoren hatte nach parenteraler Einverleibung artfremder Leberextrakte bzw. Lebersubztanz entweder überhaupt keine oder wenigstens keine heftigen Giftwirkungen beobachtet [Brown-Séquard und D'Arsonval[1]), Charrin und Delamare[2]), Delezenne[3]), Deutsch[4]), Doyon und Petitjean[5]), R. Freund[6]), Ramond[7])], während die bedrohlichen Symptome mit oft tödlichem Ausgang, die Sérégé[8]) und Billard[9]) nach Injektion artfremder Leberextrakte bzw. Leberautolysate zu verzeichnen hatten, wohl nur durch die ungewöhnliche Größe der in diesen Fällen verabfolgten Dosis zu erklären waren. Gleichwohl habe ich meine Präparate (allerdings nur die alkoholunlöslichen) auch an Ratten geprüft. Ich habe aber, wie aus Tabelle VII ersichtlich, weder vom tryptischen, noch vom

[1]) Arch. de Physiol. 5. sér. **4**, 154; Compt. rend. Soc. Biol. **1891**, 722.
[2]) Compt. rend. Soc. Biol. **60**, 357, 1906.
[3]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **131**, 427 bis 429.
[4]) Orvosi Hetilap **1900**, 590 u. 608. Referat: Maly **30**, 1055.
[5]) Compt. rend. Soc. Biol. **58**, 427 bis 428.
[6]) Berl. klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 15.
[7]) Journ. de physiol. et de path. gén. **10**, 1050, 1908.
[8]) Compt. rend. Soc. Biol. **72**, 681 bis 685, 1912.
[9]) Ebenda **69**, 452, 1910.

peptischen, noch vom autolytischen Kaninchenleberprodukt nach subcutaner Injektion von 0,4 bzw. 0,35 g pro 1 kg irgendwelche (ohne weiteres erkennbaren) Wirkungen beobachtet. Erst nach Verabreichung von 2,16 g bzw. 2,14 g pro 1 kg (also des etwa 3 bzw. 4fachen der entsprechenden stärksten Kaninchen-Injektion) vom tryptischen bzw. autolytischen Produkt traten auffallende Vergiftungserscheinungen hervor, die sich als kurzdauernde Konvulsionen bzw. mehrstündige Beschleunigung der Atmung äußerten.

Der Ausfall der Rattenversuche läßt aber wohl die Annahme zu, daß auch die Verwendung artfremden Organmaterials (wenigstens in nicht allzu hohen Dosen) den Verlauf meiner Kaninchenversuche nicht wesentlich verändert und kaum ein so charakteristisches Vergiftungsbild erzeugt haben würde, um — allein auf Grund besonderer klinischer Symptome — die drei Organprodukte in ihren biologischen Wirkungen differenzieren zu können. Wenn man aber die Frage nach der spezifischen Toxizität der Autolyseprodukte auf Grund meiner wenigen Befunde überhaupt beantworten will, so wird man auf die Beschreibung aller anderen Giftwirkungen verzichten müssen und nur die temperaturbeeinflussenden berücksichtigen dürfen. In dieser Hinsicht konnte zur Unterscheidung vom peptischen und tryptischen Produkte nicht mehr festgestellt werden, als daß das arteigene alkoholunlösliche autolytische Leberprodukt zwar in kleinen und mittleren, nicht aber in etwas größeren Dosen bei subcutaner Einführung pathologische Temperaturveränderungen hervorzurufen vermag. Ob freilich diese einzige Besonderheit des autolytischen Produktes geeignet ist, seine spezifische Toxizität zu begründen oder sogar Rückschlüsse auf die vitale Bedeutung der Autolyse zu gestatten, möchte ich dahingestellt sein lassen.

Ohne auf den Zusammenhang dieser wichtigen theoretischen Fragen mit den hier festgestellten biologischen Wirkungen arteigener Organprodukte weiter eingehen zu wollen, erscheint es aber geboten, die Abhängigkeit dieser Wirkungen von der Zusammensetzung der Produkte und insbesondere von ihrem Gehalt an pyrogenen Substanzen kurz zu erörtern. Da

nun bei meinen Versuchen gerade die alkoholunlöslichen Leberprodukte temperaturbeeinflussende Wirkungen gezeigt haben, so liegt es nahe, an eine mögliche Beteiligung des Glykogens an der Gesamtwirkung zu denken. Allerdings haben Senator und Richter[1]) [im Gegensatz zu Rolly[2])] gefunden, daß die Erzeugung einer Temperatursteigerung im tierischen Organismus nicht an den Glykogengehalt der Organe gebunden ist, und eine Reihe anderer Autoren hat keine Fieberwirkungen nach parenteraler Einführung von Glykogen beobachtet oder wenigstens verzeichnet [Böhm und Hoffmann[3]), P. Mayer[4]), Mendel und Mitchell[5]), Teissier und Zaky[6]), Voit[7])]. Weil aber in diesen Arbeiten direkte Angaben über Temperaturmessungen fehlen, habe ich je einem Kaninchen 0,4 g Glykogen[8]) pro 1 kg subcutan und intravenös injiziert, jedoch — wie aus Tabelle X ersichtlich — keine temperaturbeeinflussenden Wirkungen beobachten können.

Pyrogene Eigenschaften scheinen also in der Tat dem Glykogen abzugehen. So wird man für die hier festgestellten Temperaturwirkungen der Organpräparate andere unter ihren Bestandteilen, und zwar in erster Reihe die Eiweißspaltprodukte, verantwortlich machen müssen. Bei dem immerhin recht teuren Organmaterial habe ich darauf verzichten müssen, die bei meinen Präparaten als wirksam etwa in Betracht kommenden Eiweißkörper — sei es auch nur nach Gruppenmerkmalen — zu charakterisieren. Der einzige Anhaltspunkt, den ich mir zu diesem Zwecke verschaffte, war das Ergebnis der Biuretreaktion, die bei den peptischen und tryptischen alkoholunlöslichen Leberverdauungsprodukten positiv, bei dem entsprechenden autolytischen Produkt dagegen negativ ausfiel. Doch dieser negative Ausfall der Biuretreaktion gestattet nicht etwa die Annahme, daß sich unter den Komponenten des autolytischen Produktes nur oder vorwiegend Substanzen vom

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **54**, 16, 1904.
[2]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **78**, 250, 1903.
[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **7**, 489.
[4]) Fortschr. d. Med. **21**, Nr. 13, 1903.
[5]) Amer. Journ. of Physiol. **14**, 239 bis 247, 1905.
[6]) Compt. rend. Soc. Biol. **54**, 1098, 1902.
[7]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **58**, 557, 1897.
[8]) Dargestellt aus Kaninchenleber. Aschegehalt 1,16%.

Charakter des tiefabgebauten Eiweißes vorfinden. Denn nach Abderhalden und Prym[1]) läßt sich bei der Autolyse von Pferdeleber die Biuretreaktion auffallend früh nicht mehr nachweisen, obwohl noch die Hauptmasse der Spaltprodukte aus komplizierten Verbindungen besteht. Das Ergebnis der Biuretreaktion allein bietet uns also nur eine ganz ungenügende Orientierung über die in den Präparaten enthaltenen Mischungsbestandteile, und zwar ungenügend in Hinsicht auf ihre chemische Differenzierung und damit auch in Hinsicht auf die Bestimmung der von ihnen zu erwartenden biologischen Wirkungen. Diese Wirkungen charakterisiert Schittenhelm[2]) im Zusammenhang mit den chemischen Besonderheiten der einzelnen Eiweißkörper folgendermaßen: Natives Eiweiß aus der Gruppe der Albumine, Globuline, des Fibrins und der Nucleoalbumine ist im allgemeinen bei einmaliger Injektion relativ ungiftig. Die Histone und noch viel mehr die Protamine sind primär toxisch. Bakterienproteine sind stets primär giftig. Die höhermolekularen Peptone sind — wenn auch sehr unterschiedlich — primär giftig. Niedermolekulare Peptone und Aminosäuren, seien es Mono- oder Diaminosäuren, sind primär ungiftig, wenn man sie nicht in Mengen verabreicht, die zu erheblichen osmotischen Störungen führen. Allerdings besteht keine regelmäßige Übereinstimmung zwischen chemischer Individualität und biologischer Wirkung; denn es gibt nach Pick und Spiro[3]) „Peptone“ ohne „Peptonwirkung“ und „Peptonwirkung“ ohne „Peptone“. Im allgemeinen aber läßt sich ein gewisser Zusammenhang zwischen dem größeren oder geringeren Grade des Eiweißabbaues und der biologischen Wirksamkeit des betreffenden Spaltproduktes feststellen. Unter den Autoren, die den Einfluß der fermentativen und hydrolytischen Spaltung auf die Ausbildung toxischer Eigenschaften an verschiedenen Eiweißkörpern geprüft haben, stehen sich die Vertreter zweier gegensätzlicher Anschauungen gegenüber. Auf der einen Seite stehen z. B. Matthes[4]), der (wenigstens für Albumosen und Peptone) den Satz aufstellt, daß die Giftwirkung der Ver-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 320, 1907.

[2]) Jahresber. üb. d. Ergebn. d. Immunitätsf. **6**, Abt. I, S. 134.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 235, 1900/01.

[4]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **54**, 39 bis 70, 1895.

dauungsprodukte vom Grade der „Hydratation" abhänge und mit zunehmender Spaltung und Verminderung des Molekulargewichtes wachse; ferner Hartoch und Ssirensky (l. c.), die Pferdeserum mit Hundepankreassaft digerierten und die toxischen Eigenschaften des Gemisches mit zunehmender Dauer der tryptischen Verdauung sich steigern sahen. Zu wesentlich anderen Ergebnissen gelangten: Thompson[1]), der die Toxizität der Protamine durch Hydrolyse und Überführung in Protone sehr herabsetzen konnte; E. Zunz[2]), nach dessen Feststellungen die durch Pepsin-, Trypsin- und Erepsinverdauung des Fibrins erzeugten abiureten Stoffe keine Anaphylaxie mehr hervorzurufen vermögen; Roger[3]), der Kaninchen mit verschiedenen Säurehydrolyseprodukten arteigener Organe injizierte und die abiureten Produkte (im Gegensatz zu den ausgesprochen toxisch wirkenden peptonhaltigen) fast gar nicht giftig fand; schließlich Schittenhelm und Weichardt[4]), die ebenfalls die relative Ungiftigkeit der weitabgebauten Eiweißderivate hervorheben. Doch Abbau ist, wie die letztgenannten Autoren bemerken, nicht immer gleichbedeutend mit Entgiftung; denn es können z. B. ungiftige Aminosäuren noch weiter zu giftigen Aminen (Histidin zu β-Imidazolyläthylamin) abgebaut werden. Ein weiteres Beispiel hierfür bieten die Untersuchungen von v. Knaffl-Lenz und Pick[5]), die durch Digestion mit Pepsinsalzsäure aus konzentrierten Lösungen peptischer giftiger Produkte (Witte-Pepton) zunächst völlig ungiftige, höhermolekulare Eiweißkörper (Plasteine) und aus diesen unschädlichen Plasteinen wieder Produkte mit den für Pepton charakteristischen Giftwirkungen darstellen konnten. Gerade diese Reversibilität des Entgiftungsprozesses, den die Verdauungsprodukte im Verlaufe einer weiteren hydrolytischen Spaltung durchmachen können, sollte es verbieten, die Toxizität der einzelnen Eiweißderivate nach einem bestimmten Abbauschema festzulegen. Ein solches Schema würde — auf meine Präparate in Übereinstimmung mit der Mehrzahl der genannten Autoren angewendet — so

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 1, 1900.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. 16, 580, 1913.
[3]) Journ. de physiol. et pathol. génér. 11, 425, 1909.
[4]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 11, 69, 1912.
[5]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 296, 1913.

aufgestellt werden müssen, daß die autolytischen Organprodukte (als die tiefer abgebauten) minder toxische Eigenschaften aufweisen dürften als die peptischen und tryptischen. Dieses Schema deckt sich nun, wenigstens soweit die Giftwirkungen der Präparate in pathologischen Temperaturveränderungen zum Ausdruck kommen, keineswegs genau mit meinen Versuchsergebnissen. Denn ich habe zwar von größeren Dosen des autolytischen Leberproduktes unverkennbar geringere Temperaturwirkungen als von den entsprechenden peptischen und tryptischen Produkten, andererseits aber auch deutliche Fieberreaktionen nach Einführung kleiner und mittlerer Mengen des autolytischen Produktes beobachtet.

Welche toxischen Eigenschaften überhaupt und welche temperaturbeeinflussenden insbesondere aber den einzelnen Komponenten meiner Präparate zukommen oder vielmehr zukommen könnten, läßt sich auf Grund analoger Befunde anderer Autoren nur mit größerem oder geringerem Grade von Wahrscheinlichkeit vermuten. Für die beiden Präparate mit positiver Biuretreaktion, d. h. das peptische und das tryptische Leberverdauungsprodukt kommen ja Bestandteile vom Charakter der Albumosen und Peptone bestimmt in Betracht. Die Toxizität und insbesondere die Temperaturwirkung dieser Verbindungen sind, wie Hartoch und Ssirensky (l. c.) für die tryptischen Serumverdauungsprodukte sowie Schittenhelm und Ströbel (l. c.) für arteigene peptische Organprodukte feststellten, sehr deutlich, bisweilen sogar stark ausgeprägt. Ebenfalls deutliche und regelmäßige, wenn auch verhältnismäßig schwache Temperaturwirkungen beobachtete Salkowski[1]) nach parenteraler Einführung von peptischen und tryptischen Albumosen bzw. Peptonen aus Fibrin, wenn auch Schittenhelm, Weichardt und Hartmann[2]) sowie Leschke[3]) nur sehr hoch dosierte Witte-Peptoninjektionen von pathologischen Temperaturveränderungen gefolgt sahen. Es erscheint also die Annahme zulässig, daß Spaltprodukte aus der Gruppe der Albumosen und Peptone auch an den Temperaturwirkungen meiner Präparate — nach Maßgabe ihres Gehaltes — beteiligt sein dürften. Ob

[1]) Centralbl. f. med. Wiss. 1895, Nr. 31.

[2]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 10, Heft 3, S. 448, 1912.

[3]) Ibidem 14, Heft 1, 1913.

aber auch die abiureten Komponenten meiner Organprodukte für deren Temperaturwirkungen mitverantwortlich zu machen sind, erscheint durchaus zweifelhaft. Beim Leucin und Tyrosin wenigstens haben Thiele und Embleton[1]) keine temperaturbeeinflussenden Eigenschaften feststellen können. Daß jedoch — abgesehen von den Aminosäuren — auch andere abiurete Bestandteile der Organprodukte gerade als fiebererregend in Betracht kommen könnten, ist nach den Befunden von Mandel[2]), der beim Affen Temperatursteigerungen nach innerlicher Darreichung von 0,1 g Xanthin beobachtete, gar nicht unwahrscheinlich, wenn man sich daran erinnert, daß Xanthin als regelmäßiges Produkt der Leberautolyse bekannt ist.

Neben den organischen Bestandteilen der Organprodukte darf jedoch bei der Abwägung aller toxischen Wirkungsmöglichkeiten der Aschegehalt nicht unbeachtet bleiben, dessen gleichzeitige Einführung sowohl an und für sich das „Salzfieber" erzeugen, als auch in den Ablauf der Eiweißvergiftung eingreifen und so den wesentlichen Beobachtungsbefund fälschen kann. Sind doch durch eine Reihe von Untersuchungen die Wechselbeziehungen aufgedeckt worden, die zwischen gleichzeitig einwirkenden Salzlösungen einerseits und Organprodukt- bzw. Anaphylaxiegiften andererseits spielen können [Bornstein[3]), Friedberger und Hartoch[4]), Izar und Fagiuoli[5]), Izar und Patané[6]), Izar[7]), Ritz[8])]. Diese Beziehungen kommen in gewissen Hemmungs- und Schutzwirkungen gegenüber den toxischen Einflüssen der parenteralen Eiweißüberschwemmung zum Ausdruck. Ich habe aber dem Aschegehalte der Präparate bei meiner Versuchsanordnung Rechnung getragen und die aus ihm etwa herzuleitenden Fehlerquellen bei der Bewertung der Resultate stets berücksichtigt. Ob es freilich überhaupt notwendig oder auch nur zulässig ist, die meist bei reinen Anaphylaxiever-

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **16**, 178, 1913.

[2]) Americ. Journ. of Physiol. **20**, 439, 1907/08.

[3]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **14**, 605, 1912.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 36.

[5]) Biochim. e Terap. spec. **3**, 446, 1912. Referat: Zeitschr. f. Immunitätsf. II, **6**, Heft 11, S. 866.

[6]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **14**, 448, 1912.

[7]) Ibidem **16**, 557, 1913.

[8]) Ibidem **12**, Heft 6, 1912.

suchen beobachteten Salzwirkungen als mögliche Komplikationen auch meiner Organproduktversuche anzunehmen, erscheint um so zweifelhafter, als sich die Mehrzahl der Autoren, wie schon früher erwähnt, gegen eine Identifizierung der Organprodukt- und anaphylaktischen Vergiftung ausgesprochen hat.

Allerdings ist das anaphylaktische Fieber, für das R. Hirsch[1]) neuerdings eine subnormale Wärmeproduktion bei relativ hoher Temperatur als charakteristisch festgestellt hat, ätiologisch auf die Bildung hydrolytischer Spaltprodukte mit positiver Biuretreaktion zurückzuführen [Friedberger und Mita[2])]. Gleichwohl haben verschiedene Autoren wie Besredka, Ströbel und Jupille[3]), Hirschfelder[4]), Leschke[5]), Loewit[6]), Manwaring[7]), Schittenhelm[8]) zwar große Ähnlichkeiten zwischen Pepton- und anaphylaktischer Vergiftung konstatiert, die völlige Identifizierung beider Intoxikationsformen aber abgelehnt. Diese Ablehnung läßt auch den Versuch aussichtslos erscheinen, den Mechanismus der Pepton- bzw. Organproduktvergiftung mit Hilfe einer Anaphylaxietheorie erklären zu wollen. Für den Aufbau und die Anwendung einer besonderen Theorie der Organproduktvergiftung mangelt es aber wohl noch an einer sicheren experimentellen Grundlage und an ausreichendem Beobachtungsmaterial.

Meine hier vorliegenden Versuchsergebnisse lassen sich kurz so zusammenfassen:

Ein durch Trypsinwirkung aus arteigener Leber gewonnenes, alkoholunlösliches Verdauungsprodukt vermag, sowohl bei subcutaner als auch intravenöser Einführung bei Kaninchen in kleinen, größeren und hohen Gaben (jedoch bemerkenswerterweise nicht in mittleren Dosen von durchschnittlich 0,362 g pro Kilogramm bei subcutaner Injektion) pathologische Temperaturveränderungen hervorzurufen. Das entsprechende peptische Produkt bewirkt diese Veränderungen, wenn es subcutan in kleinen, mittleren, größeren und hohen Dosen einge-

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. **13**, Heft 1.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **10**, 276 ff., 1911.
[3]) Ibidem **16**, 249, 1913.
[4]) Journ. of experim. med. **12**, 586. Referat: Maly **40**, 1168.
[5]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **14**, Heft 1, 1913.
[6]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 337; **68**, 83; **73**, Heft 1.
[7]) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig. **8**, 589, 1911.
[8]) Berlin. klin. Wochenschr. **1913**, 809.

Tabelle I.

Subcutane Einführung von tryptischen Verdauungsprodukten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert: von dem Verdauungsprodukt pro kg g	Es wurden injiziert: an Aschebestandteil., absol. g	Temperaturdifferenz am Tage: der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage: des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage: nachher	Besondere Beobachtungen
1	1725	0,185	0,0253	—	+ 0,8° (7 Std. post inj.)	normal	Am Tage des eigentlich. Versuchs 7 Std. post inj. eine Spur Albumen im Harn.
2	1830	0,186	0,0252	— 0,5° (8 Std. p. inj.)	+ 1,3° (8 Std. p. inj. 40,1°)	normal	
3	1610	0,186	0,0221	normal	+ 0,7° (7 Std. p. inj.)	normal	
4	1725	0,185 (2 Tage nach Versuch 1 wiederholt)	0,0253	—	+ 1,5° (8 Std. p. inj.)	+ 0,8°	
5	1830	0,186 (2 Tage nach Versuch 2 wiederholt)	0,0252	— 0,5° (8 Std. p. inj.)	+ 0,7° (8 Std. p. inj.)	—	
6	1610	0,186 (1 Tag nach Versuch 3 wiederholt)	0,0221	normal	+ 0,1° (7 Std. p. inj.)	—	
7	2220	0,371	0,0651	—	+ 0,2° ($6^1/_2$ Std. p. inj.)	normal	
8	2250	0,372	0,0620	normal	+ 0,8° (8 Std. p. inj.)	normal	
9	1700	0,602	0,0809	+ 0,7° (8 Std. p. inj.)	+ 1,6° ($8^1/_2$ Std. p. inj.)	+ 0,7°	
10	2310	0,605	0,1034	normal	+ 1,7° (8 Std. p. inj. 40,6°)	normal	Am Tage des eigentlich. Versuchs 8 Std. post inj. Spur Albumen im Harn.
11	1400	0,792	0,0819	2 Std. p. inj. — 0,4°; dann Anstieg um 0,6°	2 Std. p. inj. — 0,6°; dann Anstieg um 1,7° in den nächsten 6 Std. bis 40,1°	normal	

spritzt wird; läßt sie aber vermissen, wenn es in kleinen oder größeren Mengen intravenös verabreicht wird. Das autolytische Produkt erzeugt pathologische Temperaturveränderungen nur nach subcutaner Injektion kleiner oder mittlerer Dosen, nicht aber nach Einführung etwas größerer Mengen unter die Haut, während es umgekehrt bei intravenöser Einverleibung in kleinen Gaben gar nicht, wohl aber in größeren temperatursteigernd wirkt.

Die drei arteigenen, alkohol- und ätherlöslichen Leberprodukte sind weder bei subcutaner noch bei intravenöser Ein-

Tabelle II.

Intravenöse Einführung von tryptischen Verdauungsprodukten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert von dem Verdauungsprodukt pro kg g	Es wurden injiziert an Aschebestandteil., absol. g	Temperaturdifferenz am Tage der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage nachher	Besondere Beobachtungen
12	2530	0,185	0,0371	+ 0,8°	+ 0,9° (6½ Std. p. inj.)	—	
13	1630	0,186	0,0224	+ 0,9°	+ 1,35° (2 Std. p. inj. 40,05°)	—	
14	1550	0,186	0,0213	normal	+ 0,55° (2 Std. p. inj.)	—	
15	1970	0,466	0,0678	+ 0,9°	+ 1,4° (2 Std. p. inj. 40,2°)	normal	7½ Std. p. inj. im Harn Spur Albumen.
16	2020	0,466	0,0695	+ 1,1°	+ 1,3° (2 Std. p. inj. 40,0°)	—	
17	1270	0,931	0,0875	normal	+ 0,5° (2 Std. p. inj.)	—	
18	1340	0,931	0,0923	— 0,5° (7 Std. p. inj.)	— 0,9° (2 Std. p. inj.)	normal	

führung imstande, in Dosen von durchschnittlich 0,37 g pro Kilogramm bei Kaninchen einwandfrei feststellbare pathologische Temperaturveränderungen hervorzurufen.

Temperaturbeeinflussende Wirkungen arteigener tryptischer und autolytischer Organprodukte scheinen bisher noch nicht beobachtet und als Merkmale ihrer Toxizität festgestellt worden zu sein. Diese Feststellungen sind — soweit sie die autolytischen Organprodukte betreffen — vielleicht geeignet, auch experimentelle Fragestellungen praktisch-klinischer Richtung anzuregen.

Die Ausscheidung von koagulierbarem Eiweiß mit dem Harn wurde in 7 Fällen (unter 51 Kaninchenversuchen) beobachtet, und zwar bei

3	Tieren	unter	20	mit dem	tryptischen	Produkt	injizierten
1	Tier	„	14	„ „	peptischen	„	„
2	Tieren	„	15	„ „	autolytischen	„	„
1	Tier	„	2	„ „	Glykogen		„

Es konnten stets nur Spuren von Eiweiß nachgewiesen werden. Die Albuminurie hielt nur einen bzw. zwei Tage an.

Weitere auffallende klinische Symptome, Vergiftungserscheinungen oder Zeichen schwerer Erkrankung traten bei keinem der Kaninchenversuche hervor.

An Ratten wurden weder vom tryptischen noch vom peptischen, noch vom autolytischen Kaninchenleberprodukt nach subcutaner Injektion von 0,4 bzw. 0,35 g pro Kilogramm irgendwelche Wirkungen beobachtet. Erst nach Verabreichung von 2,16 bzw. 2,14 g pro Kilogramm Ratte vom tryptischen bzw. autolytischen Produkt traten auffallende Vergiftungserscheinungen hervor, die sich als kurzdauernde Konvulsionen bzw. mehrstündige Beschleunigung der Atmung äußerten.

Tabelle III.

Subcutane Einführung von peptischen Verdauungsprodukten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert: von dem Verdauungsprodukt pro kg g	Es wurden injiziert: an Aschebestandteil., absol. g	Temperaturdifferenz am Tage: der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage: des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage: nachher	Besondere Beobachtungen
19	1880	0,188	0,0223	— 0,7° (2 Std. p. inj.)	+ 1° (7 Std. post inj.)	—	
20	2350	0,191	0,0202	—	+ 1,5° (6 Std. p. inj. 40,1°)	normal	
21	1880	0,188 (1 Tag nach Versuch 19 wiederholt)	0,0223	— 0,7° (2 Std. p. inj.)	+ 0,7° (7 Std. post inj.)	normal	
22	2350	0,191 (2 Tage nach Versuch 20 wiederholt)	0,0202	—	+ 1,5° (7 Std. post inj.)	normal	
23	2230	0,376	0,0529	— 0,5° (7 Std. p. inj.)	2 Std. post inj. — 0,8°; dann Anstieg um 1,2° in den nächsten 5 Std.	— 0,6°	D. Tier erscheint innerhalb der auf den eigentlichen Vesuch folgenden 7Std. matt und frißt sehr wenig. Am 1. u. 2. Tag nach d. eigentlichen Versuch Spur Albumen im Harn.
24	2130	0,383	0,0367	normal	2 Std. post inj. — 0,3°: dann Anstieg um 0,8° in den nächsten 8 Std.	normal	
25	1730	0,622	0,0484	+ 0,8° (8 Std. p. inj.)	+ 1,9° (8 Std. post inj. 40,0°)	normal	An den auf dem eigentlich. Versuch folgenden 4 Tagen noch Abendtemperaturen über 40°.
26	2815	0,624	0,0791	normal	+ 2,2° (8 Std. post inj. 41,3°)	+ 0,9° (bis 40,3°)	
27	1850	0,799	0,0934	+ 1,4° (6 1/2 Std. post inj.)	+ 1,9° (6 1/2 Std. post inj. 40,2°)	— 0,3°	An dem auf den eigentlich. Versuch folgenden Tage noch Morgentemperatur von 40,1°. Das Tier frißt i. den ersten Tagen nach dem Versuch wenig.

Tabelle IV.

Intravenöse Einführung von peptischen Verdauungsprodukten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert von dem Verdauungsprodukt pro kg g	Es wurden injiziert an Aschebestandteilen, absolut g	Temperaturdifferenz am Tage der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage nachher
28	1750	0,188	0,0208	+0,7° (40,1°)	+0,9° (2 Std. p. inj. 40,1°)	—
29	2090	0,191	0,0180	normal	+0,5° (7 Std. p. inj.)	+0,7°
30	2170	0,483	0,0661	normal	+0,6° (2 Std. p. inj.)	normal

Tabelle V.

Subcutane Einführung von autolytischen Produkten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert von dem autolytischen Produkt pro kg g	Es wurden injiziert an Aschebestandteil., absol. g	Temperaturdifferenz am Tage der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage des eigentlichen Versuches	Temperaturdifferenz am Tage nachher	Besondere Beobachtungen
31	2540	0,159	0,1029	—	+0,2° (6½ Std. p. inj.)	normal	
32	1200	0,175	0,0294	normal	+1,5° (7 Std. post inj. 40,6°)	−0,3°	Am Tage nach dem eigentlich. Versuch Spur Albumen im Harn.
33	2540	0,159 (2 Tage nach Versuch 31 wiederholt)	0,1029	—	+0,4° (7 Std. post inj.)	—	
34	1200	0,175 (2 Tage nach Versuch 32 wiederholt)	0,0294	normal	+1,25° (7 Std. post inj. 40,6°)	—	Die noch vom ersten Versuch her bestehende Albuminurie hält an.
35	2240	0,319	0,1815	—	+1,1° (7 Std. post inj.)	+0,8°	
36	1280	0,351	0,0627	−0,3°	+0,8° bzw. +0,6° (2 Std. bzw. 7 Std. post inj.)	normal	
37	1380	0,363	0,0504	+0,6°	+0,8° (9½ Std. p. inj.)	—	
38	2400	0,478	0,2917	+1,3° [1]) (2 Std. p. inj. 40,2°)	+1,7° (4 Std. u. 6½ Std. post inj. 40,6°)	−0,6°	Am ersten und zweiten Tage n. dem eigentlichen Versuch eine Spur Albumen i. Harn.
39	1410	0,479	0,1715	normal	+1,1° (7½ Std. p. inj. 40,5°)	normal	
40	1330	0,545	0,0729	+1,3° (8 Std. p. inj. 40,7°)	+1,65° (7 Std. post inj. 41,0°)	normal	

[1]) **Es wurden 30 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung injiziert.**

Tabelle VI.

Intravenöse Einführung von autolytischen Produkten aus Kaninchenlebern.

Versuch	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden injiziert: von dem Verdauungsprodukt pro kg g	Es wurden injiziert: an Aschebestandteilen, absolut g	Temperaturdifferenz am Tage: der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage: des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage: nachher
41	2200	0,159	0,0891	+ 1,2° (5 1/2 Std. p. inj.)	+ 0,4° (5 Std. p. inj.)	+ 0,5°
42	1610	0,182	0,0294	+ 0,7° (2 Std. p. inj. 40,1°)	0 (2 Std. p. inj.)	—
43	1930	0,454	0,0882	+ 0,55° (2 Std. p. inj.)	+ 1,1° (2 Std. p. inj.)	+ 0,8°

Tabelle VII.

Subcutane Einführung von Produkten aus Kaninchenlebern bei Ratten.

Versuch	Gew. der Ratte g	Es wurden injiziert: vom Produkt der	absol. g	pro kg g	Wirkungen der Injektion auf das Allgemeinbefinden
44	170	trypt. Verd.	0,068	0,40	Keine.
45	120	trypt. Verd.	0,260	2,16	Unmittelbar nach der Injektion taumelt das Tier. Es treten Konvulsionen ein, die aber nach etwa 2 Minuten nachlassen. Nach einigen Stunden ist das Tier munter.
46	170	pept. Verd.	0,068	0,40	Keine.
47	120	Autolyse	0,0423	0,35	Keine.
48	140	Autolyse	0,300	2,14	Unmittelbar nach der Injektion taumelt das Tier. Dann setzt beschleunigte Atmung ein und bleibt während der nächsten 6 Stunden bestehen. Am nächsten Tage ist das Tier wieder munter.

Tabelle VIII.

Subcutane Einführung von alkohol- und ätherlöslichen Produkten aus Kaninchenlebern bei Kaninchen.

Versuch	Gewicht d. Kaninchens g	Es wurden injiziert: vom Produkt der	pro kg g	Asche absolut g	Temperaturdifferenz am Tage: der NaCl-Injektion	Temperaturdifferenz am Tage: des eigentlichen Versuchs	Temperaturdifferenz am Tage: nachher
49	1480	trypt. Verd.	0,43	0,0208	— 0,2°	0	—
50	1440	pept. Verd.	0,32	0,1285	— 0,6° (2 Std. p. inj.)	— 1,0° (2 Std. p. inj.)	—
51	1870	Autolyse	0,39	0,1201	+ 0,15° (2 Std. p. inj.)	+ 0,05° (2 Std. p. inj.)	—

Tabelle IX.

Intravenöse Einführung von alkohol- und ätherlöslichen Produkten aus Kaninchenlebern bei Kaninchen.

Versuch	Gewicht d. Kaninchens g	Es wurden injiziert vom Produkt der	pro kg g	Asche absolut g	Temperaturdifferenz am Tage der NaCl-Injektion	des eigentlichen Versuchs	nachher
52	1710	trypt. Verd.	0,39	0,0221	+ 0,4° (2 Std. p. inj.)	+ 0,1° (2 Std. p. inj.)	—
53	1780	pept. Verd.	0,30	0,1495	+ 0,4° (2 Std. p. inj. 40,3°)	+ 0,7° (2 Std. p. inj.)	—
54	1920	Autolyse	0,38	0,1201	− 0,1° (2 Std. p. inj. 40,1°)	+ 0,3° (2 Std. p. inj.)	—

Tabelle X.

Parenterale Einführung von Glykogen aus Kaninchenlebern bei Kaninchen.

Versuch	Gewicht d. Kaninchens g	Es wurden injiziert vom Glykogen	absol. g	pro kg g	Temperaturdifferenz am Tage der NaCl-Injektion	des eigentlichen Versuchs	nachher	Besondere Beobachtungen
55	1820	subcutan	0,728	0,40	− 0,2° (2 Std. p. inj.)	0	—	Urin frei von Eiweiß, redus. nicht.
56	1370	intravenös	0,548	0,40	+ 0,5° (2 Std. p. inj.)	+ 0,35° (2 Std. p. inj.)	—	Urin enthält eine Spur Eiweiß, reduziert nicht.

Das Verhalten der Maltase im Blutserum des hungernden und gefütterten Tieres.

Von

T. Kumagai, Tokio.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 21. Oktober 1913.)

Mit 6 Figuren im Text.

Bei seinen Beobachtungen über die Maltase des Blutserums und der Leber war Ch. Kusumoto[1]) beiläufig auch der Frage nähergetreten, ob die Unterschiede, die man bei einer und derselben Tierart, z. B. dem Hunde, in bezug auf die Wirksamkeit der Maltase findet, in einer Beziehung zum Ernährungszustand des Tieres stehen. Der Zweck seiner Versuche war in erster Linie, die Maltasewirkung des Blutes und der Leber zu vergleichen; und er tat dies bei verschiedenen Hunden, von denen die einen stark mit Kohlenhydraten gefüttert, die anderen durch Herausnahme des Pankreas in den Zustand höchsten Kohlenhydratbedarfs versetzt worden waren. Hierbei zeigte sich, daß die Wirkung des Blutserums auf Maltose bei letzteren stärker war als bei ersteren.

Die Versuche sind aber nicht zahlreich genug, um ein abschließendes Urteil zu gestatten. Ich übernahm es deshalb auf Anregung von Herrn Prof. Röhmann, neue Versuche nach der angedeuteten Richtung hin anzustellen.

Da ich zu meinen Versuchen nur verhältnismäßig kleine Mengen Blut benötigte, konnte ich den Einfluß des Ernährungszustandes auf die Maltase des Blutserums bei demselben Tiere untersuchen, indem ich in gewissen Zwischenräumen die Blutproben nach der Fütterung oder im Hunger entnahm.

1. Methode der Untersuchung.

Das Blut wurde durch Venenpunktion gewonnen und in dem Zentrifugengläschen aufgefangen. Nach einer Viertelstunde wurde zentrifugiert und das Serum abpipettiert.

[1]) Diese Zeitschr. **14**, 217, 1908.

Bestimmung der Maltase: 22,2 g Maltose wurden zusammen mit 9 g Chlornatrium und 5,0 g Fluornatrium in 1000 ccm Wasser unter Kochen gelöst. Die Lösung wurde nach dem Erkalten filtriert.

Nun wurde das zu untersuchende Serum in fallender geometrischer Reihe (1,0 ccm, 0,64 ccm, 0,4 ccm usw.) auf die einzelnen Reagensgläser verteilt und mit 0,9 % Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt. Dann wurden in jedes Röhrchen 9 ccm der erwähnten Maltoselösung gegeben. Jedes Röhrchen wurde unmittelbar nach der Mischung polarisiert und hierauf fest zugekorkt in den Brutschrank (ca. 38°) gestellt. Nach 5, 20, 25 Stunden wurde wieder polarisiert. Da die Maltose stärker dreht als der Traubenzucker, so nimmt bei ihrer Spaltung der beobachtete Drehungswinkel ab. Die Abnahme der Drehung gibt also eine Vorstellung von der Geschwindigkeit, mit der die Umwandlung erfolgt, und damit von der Fermentwirkung. Für letztere erhält man gleichzeitig einen zweiten Wert durch die Bestimmung der kleinsten Menge Serum, mit der noch eine nachweisbare Spaltung der Maltose zu erzielen ist.

2. Vorversuche.

Nach der erwähnten Methode wurde zunächst noch einmal die Maltase des Hammel-, Kalb- und Schweineserums bestimmt.

Serum ccm	Rechtsdrehung nach Stunden 0	5	20	25	Abnahme der Drehung	
1,0	2°29′	2°29′	2°21′	2°21′	**8′**	Hammel
0,64	2°38′	2°38′	2°35′	2°35′	**3′**	
0,4	2°42′	2°42′	2°42′	2°42′	**0′**	
1,0	2°30′	2°25′	2°18′	2°18′	**12′**	Kalb
0,64	2°34′	2°30′	2°26′	2°25′	11′	
0,4	2°36′	2°36′	2°34′	2°34′	**2′**	
0,25	2°40′	2°40′	2°38′	2°38′	**2′**	
0,16	2°42′	2°42′	2°42′	2°42′	**0**	
1,0	2°28′	1°41′	1°22′	1°17′	1°11′	Schwein
0,1	2°43′	2°34′	1°27′	1°22′	**1°21′**	
0,064	2°45′	2°41′	2°37′	1°33′	1°22′	
0,04	2°45′	2°43′	2°40′	2°11′	44′	
0,025	2°45′	2°45′	2°41′	2°23′	22′	
0,016	2°45′	2°45′	2°43′	2°30′	15′	
0,01	2°45′	2°45′	2°43′	2°35′	10′	
0,0064	2°45′	2°45′	2°45′	2°37′	8′	
0,004	2°45′	2°45′	2°45′	2°40′	5′	
0,0025	2°45′	2°45′	2°45′	2°41′	4′	
0,0016	2°45′	2°45′	2°45′	2°42′	**3′**	
0,001	2°45′	2°45′	2°45′	2°42′	**0**	

Anmerkung: Ohne Zusatz von Maltose drehte 1 ccm Serum vom Hammel mit 9 ccm der Fluornatrium-Kochsalzlösung gemischt —19′, vom Kalb —18′, vom Schwein —18′. Die Drehung änderte sich beim Stehen im Brutschranke nicht.

Die Versuche bestätigen die Angabe von Ch. Kusumoto, nach denen das Hammelserum auf Maltose nur schwach wirkt, stärker wirkt das Serum des Kalbes, sehr viel stärker das des Schweines.

3. Versuche an Hunden.

Die gemachten Beobachtungen werden in den folgenden Figuren graphisch dargestellt. In den Figuren 1, 3, 5 bezeichnet die Abszisse die Zeit, die Ordinate den Drehungswinkel, der in der zugehörigen Zeit, bei Einwirkung von 1 ccm Blutserum auf die Maltoselösung unter den obenerwähnten Bedingungen gefunden wurde. In Fig. 2, 4, 6 sind auf der Abszisse die Kubikzentimeter Serum aufgetragen, die Ordinaten geben die höchsten Werte an, welche für die Drehungsabnahme gefunden wurden.

Hund I (Fig. 1 u. 2).

Kurve II. Versuch vom 9. XII. 12. Hund in gewöhnlicher Weise gefüttert. Letzte Nahrungsaufnahme am 8. XII. 6^h abends. Blutentnahme am 9. XII. 12^h mittags — also nach 20 Stunden.

Kurve I. Versuche vom 12. XII. 12. Hund ward um 8^h vormittags mit 500 g Kartoffeln und etwas Fleisch gefüttert. Blutentnahme um 3^h nachmittags — also nach 7 Stunden.

Kurve III. Versuch vom 15. XII. 12. Der Hund hungert.

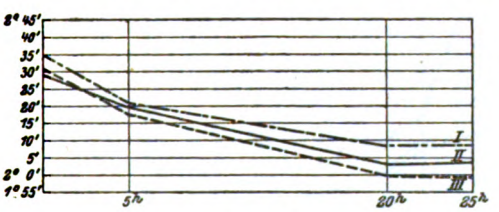


Fig. 1.

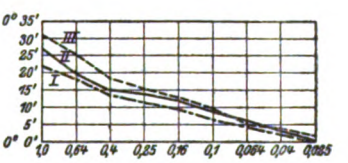


Fig. 2.

Fig. 1 zeigt keine wesentlichen Unterschiede in bezug auf die Maltasewirkung, nach Fig. 2 ist die Maltasewirkung im Hunger ein wenig größer als eine Zeit nach der Fütterung.

Sehr viel größer ist der Unterschied in den beiden folgenden Versuchen:

Hund II (Fig. 3 u. 4).

Kurve II. Versuch vom 8. XII. 12. Der Hund, 20 kg schwer, wurde mit gemischter Nahrung gefüttert. Letzte Nahrungsaufnahme gegen 7^h abends. Blutentnahme am 9. XII. 12, also 20 Stunden nach der letzten Mahlzeit.

Kurve I. Versuch vom 21. XII. 12. Hund erhält am 20. XII. 3mal im Laufe des Tages Kartoffeln und Fleisch. Am 21. XII. um 8h morgens noch einmal ebenso gefüttert. Blutentnahme um 2 Uhr, also 6 Stunden nach Fütterung.

Kurve III. Versuch vom 28. XII. 12. Hund hungert seit 24. XII., erhält aber Wasser.

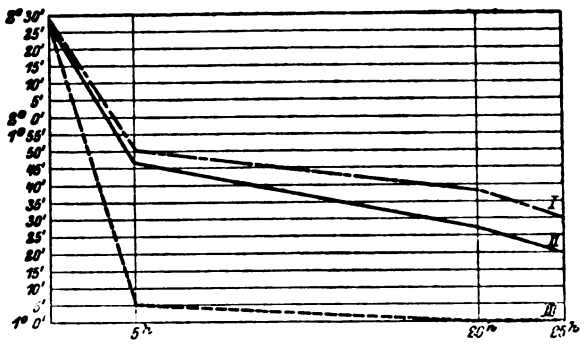


Fig. 3.

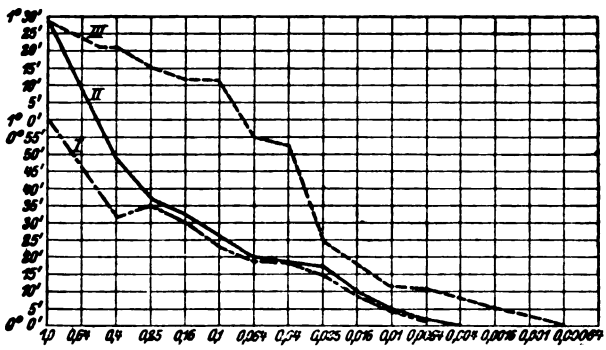


Fig. 4.

Hund III (Fig. 5 u. 6).

Kurve I. Versuch vom 13. XII. 12. Der Hund erhielt um 5h früh gemischte Nahrung. Blutentnahme 6 Stunden nach der Fütterung.

Kurve II. Versuch vom 28. XII. 12. Der Hund hungert seit 24. XII. Er erhielt nur Wasser.

In beiden Versuchen ist die Spaltung der Maltose durch das Blutserum im Hunger bedeutend stärker als nach der Fütterung. Dies wird dadurch bewiesen, daß im Hunger die Spaltung der Maltose durch das Blutserum schneller erfolgt, und daß bei Mengen des Blutserums, die beim

gefütterten Tiere bereits unwirksam sind (0,001 bzw. 0,000 64 ccm), sich noch eine spaltende Wirkung nachweisen läßt.

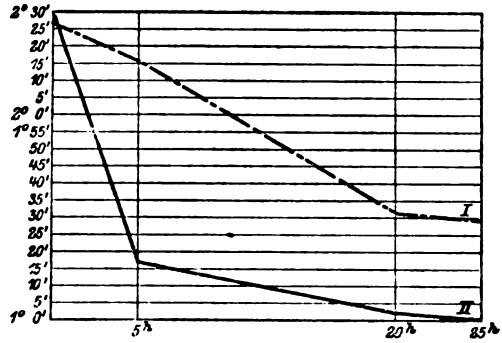


Fig. 5.

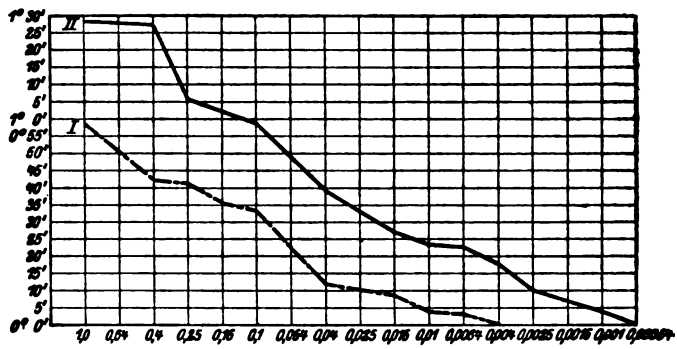


Fig. 6.

Diese Versuche stehen also im Einklange mit den Beobachtungen von Ch. Kusumoto.

Versuche über die Antigenwirkung der Kohlenhydrate.

Von

T. Kumagai, Tokio.

(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 21. Oktober 1913.)

I. Die Antigenwirkung des Rohrzuckers.

Von den den Chemikern bekannten Zuckerarten ist bisher nur ein Teil in der Natur gefunden worden, und von diesen kommen für den Stoffwechsel der tierischen Zellen nur in Betracht die d-Glucose, die d-Fructose und während der Säuglingszeit noch die Galaktose. Diese Zucker entstehen im Darmkanal durch fermentative Spaltung aus Stärke, Rohrzucker, Milchzucker.

Von E. Weinland[1]) war nun die Frage aufgeworfen worden, ob nicht doch auch beim Tier, ähnlich wie dies bei den niedrigststehenden Organismen, gewissen Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen der Fall sei, eine Anpassung an andere Kohlenhydrate zu erzwingen wäre. Im Anschluß an Versuche mit Milchzucker, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, machte Weinland Fütterungsversuche mit Inulin, Salepschleim, Steinnußspänen, Agar-Agar, fand aber eine solche Anpassung nicht. Den Grund hierfür sah er darin, „daß möglicherweise die Art der Darreichung des Stoffes im Darm das Tier nicht unter den Zwang setze, den betreffenden Stoff wirklich aufzunehmen, d. h. seinen Zellen so einzuverleiben, daß diese nunmehr auf ihn reagieren müssen". Brächte man aber die zu prüfenden Stoffe den Tieren subcutan bei, so würden diese gezwungen, sie in die Blutbahn überzunehmen und damit

[1]) Zeitschr. f. Biologie 47, 279, 1906.

würden sie den Zellen des Körpers, so sehr als dies überhaupt möglich ist, nahegebracht.

Von solchen Erwägungen geleitet, spritzte Weinland erwachsenen Hunden zunächst Rohrzucker unter die Haut. Die gesamte eingespritzte Menge Rohrzucker wurde aber in Übereinstimmung mit älteren Beobachtungen durch den Harn ausgeschieden. Wenn er jedoch jungen, noch saugenden Tieren wiederholt und allmählich steigende Mengen von Rohrzucker injizierte, so nahm die im Harn ausgeschiedene Rohrzuckermenge anscheinend ab. Es schien also Rohrzucker im Stoffwechsel zerstört zu werden. Da nun der Assimilation der Disaccharide nach den bisherigen Erfahrungen stets eine Spaltung in die Hexosen vorangeht, so vermutete Weinland eine solche auch bei diesen Versuchen. Die Vermutung erwies sich als richtig. Während das gewöhnliche Blutserum kein Invertin (Saccharase, Sucrase[1]) enthält, fand es sich hier in dem Blute der jungen Tiere, denen Rohrzucker wiederholt unter die Haut gespritzt worden war.

In bezug auf die Herkunft dieses Fermentes verweist E. Weinland auf den Invertingehalt der Darmschleimhaut und neigt der Annahme zu, daß es sich beim Auftreten des Invertins im Blute nicht um eine durch Nerven ausgelöste, sondern um eine unmittelbare chemische Wirkung des eingespritzten Rohrzuckers auf die Darmzellen handele. Dies sei deshalb wahrscheinlich, weil einzellige Organismen, bei denen ein nervöser Anreiz ausgeschlossen ist, ähnliche „Anpassungen" zeigen. Das Pankreas war an der Invertinbildung nicht beteiligt.

Die Versuche E. Weinlands wurden später unter anderen Gesichtspunkten von E. Abderhalden wieder aufgenommen. Die unter Abderhaldens Leitung angestellten Versuche sind aber in sich widersprechend. C. Brahm[2]) fand nach der subcutanen Injektion in den einen Fällen das Serum auf Rohrzucker aktiv, in den anderen war es inaktiv. „Eine größere Anzahl von derartigen Versuchen wurde ausge-

[1]) Der Ausdruck Invertase ist als sprachlich inkorrekt zu vermeiden.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 429, 1909.

führt, um festzustellen, unter welchen Bedingungen sich das Auftreten von Fermenten konstant feststellen läßt, jedoch bis jetzt ohne Erfolg." In einer späteren Arbeit von Abderhalden und Kapfberger[1]) wurde „der Erfolg der Injektion dann ein besserer, wenn man die Menge des Rohrzuckers einschränkte". Es wurden 10 ccm einer 5 bis höchstens 10%igen Lösung subcutan oder 2 ccm intravenös injiziert. „In keinem einzigen Falle war das Resultat negativ", dagegen wurden individuelle Unterschiede beobachtet insofern, als beim einen Tier der zugesetzte Rohrzucker vom Plasma resp. Serum rascher gespalten wurde als in anderen Fällen.

Der Entdeckung Weinlands kommt wegen ihrer Beziehung zur Immunitätslehre eine große Bedeutung zu. Die Bildung des Invertins nach Einspritzung von Rohrzucker erinnert an die Bildung eines Antikörpers nach Einspritzung eines Antigens. Ja, wenn man ein Antigen dahin definiert, daß es ein Stoff ist, der im Körper ein in die Blutbahn übergehendes Reaktionsprodukt erzeugt, das mit dem eingeführten Stoff in irgendeiner eigenartigen Weise reagiert, so ist der Rohrzucker ein Antigen, das Invertin sein Antikörper. Diese Beziehung erscheint besonders interessant, da hier das Antigen ein krystallinischer Körper von bekannter chemischer Struktur ist, ein Kohlenhydrat, kein Eiweißkörper, wie die bisher bekannten Antigene, und der Antikörper ein Enzym, dessen Wirkung auf das Antigen man genau kennt.

Ich folgte daher gern der Aufforderung von Herrn Prof. Röhmann, neue Versuche zuvörderst zur Nachprüfung der Angaben von Weinland und Abderhalden anzustellen, und tat dies um so lieber, als ich mich bereits seit längerer Zeit mit serologischen Untersuchungen beschäftigt hatte.

1. Methode der Untersuchung.

Die Einführung der Rohrzuckerlösung erfolgte entweder subcutan oder (ohne Anästhesie) in eine Vene des Ohres bzw. einer Pfote. Die intravenöse Injektion ist im allgemeinen vorzuziehen, da häufig schon nach der zweiten subcutanen Injektion an der Injektionsstelle trotz möglichster Antisepsis eine abscedierende Entzündung auftritt.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**, 25, 1910.

Die Entnahme des Blutes geschah in üblicher Weise durch Venenpunktion. Das Blut gerann in dem Zentrifugengläschen und wurde in diesem, nachdem es geronnen war, etwa eine Viertelstunde nach der Entnahme, in manchen Fällen auch später, zentrifugiert.

Das Blutserum wurde mit der Pipette abgehoben. In einer Reihe von Versuchen wurde mit so viel Fluornatrium versetzt, daß es 0,5% davon enthielt. In diesen Fällen enthielt auch die zur Inversion benutzte Rohrzuckerlösung neben 0,9% NaCl noch 0,5% NaF. In anderen Fällen diente als Antisepticum Toluol.

Zur Feststellung der Inversion diente die polarimetrische Untersuchung mittels eines Halbschattenapparates, der Minuten, also 0,015°, abzulesen gestattete. Vor der Polarisation wurde, wenn nicht anders angegeben, das Eiweiß entfernt. Zu diesem Zwecke wurden 5 ccm des zu prüfenden Gemisches mit 10 ccm Wasser verdünnt und im Wasserbade mit 1 g essigsaurem Natrium und 1 ccm etwa 30%iger Eisenchloridlösung erhitzt. Im Filtrat wurde nach Bestimmung der Drehung im 1-Dezimeterrohr die Trommersche und die Osazonprobe angestellt.

Um eine Vorstellung von der Stärke der Invertinwirkung zu erhalten, wurde in gewissen Versuchen Limes-Invertin (L.-I.) bestimmt, d. h. es wurde durch entsprechende Verdünnung die kleinste Menge Serum ermittelt, die in 5 ccm einer 2%igen Rohrzuckerlösung noch eine nachweisbare Änderung der Drehung bzw. ein Auftreten der Reduktion und Abscheidung von Glucosazon bei den betreffenden Proben bewirkte.

2. Vorversuche.

Es sollte ermittelt werden, a) ob das normale Blutserum irgendwelche Stoffe enthält, welche die Wirkung des Invertins beeinflussen, b) ob Toluol oder Fluornatrium bei der Prüfung des Blutserums auf Invertin das geeignete Antisepticum ist.

Zu den Versuchen diente als Invertin der Chloroformwasserauszug der Dünndarmschleimhaut. Die Schleimhaut des Dünndarms vom Kaninchen bzw. Schwein wurde abgekratzt, zerkleinert und auf 1 g mit 2 ccm Chloroformwasser während 12 Stunden bei Zimmertemperatur extrahiert.

Versuch 1.

Zu 10 ccm Hammelserum bzw. 10 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung, welche beide etwa 2% Rohrzucker enthielten, wurden je 1 ccm eines Chloroformwasserextraktes des Kaninchendarms hinzugefügt bzw. von 1 ccm ab fallende Mengen, die mit 0,9%iger NaCl-Lösung auf 1 ccm aufgefüllt wurden. Die Proben waren mit Toluol versetzt und blieben etwa 24 Stunden im Brutschranke stehen.

Tabelle I.

	Menge des Extraktes ccm	10 ccm enthaltend 2% Rohrzucker und Hammelserum Drehung	Reduktion	0,9%ige NaCl-Lösung Drehung	Reduktion
1	1,0	+ 5′	++++	+ 5′	++++
2	0,5	+ 10′	+++	+ 11′	+++
3	0,25	+ 13′	++	+ 13′	++
4	0,125	+ 14′	++	+ 14′	++
5	0,05	+ 15′	++	+ 15′	++
6	0,025	+ 18′	++	+ 19′	++
7	0,01	+ 21′	++	+ 20′	++
8	0,005	+ 21′	+	+ 21′	+
9	0,0025	+ 22′	–	+ 22′	–
10	0,001	+ 22′	–	+ 22′	–

Das Blutserum schien keinen Einfluß auf das Invertin der Darmschleimhaut auszuüben.

Versuch 2.

Schweineserum wird mit 2% Rohrzucker versetzt. 80 ccm davon erhalten noch 1,2 g, also 1,5% NaF. Andere 80 ccm werden mit 1 ccm Toluol geschüttelt. Je 5 ccm werden mit fallenden Mengen eines Chloroformwasserextraktes vom Dünndarm des Schweines versetzt.

Tabelle II.

	Darmschleimhautextrakt ccm	5 ccm Rohrzucker-Blutserum mit 1,5% NaF Drehung	Reduktion	mit Toluol Drehung	Reduktion
1	1,0	+ 2′	+	– 1′	+
2	0,5	+ 7′	+	– 2′	+
3	0,25	+ 10′	+	+ 3′	+
4	0,1	+ 11′	+	+ 5′	+
5	0,05	+ 11′	+	+ 7′	+
6	0,025	+ 11′	+	+ 8′	+
7	0,01	+ 13′	+	+ 9′	+
8	0,005	+ 15′	+	+ 9′	+
9	0,0025	+ 18′	+	+ 10′	+
10	0,001	+ 20′	+	+ 11′	+
11	0,0005	+ 23′	+	+ 11′	+
12	0,00025	+ 26′	+	+ 12′	+

1,5% Fluornatrium hemmt die Invertinwirkung.

Versuch 3.

Versuch 2 wird wiederholt, nur enthält das Serum 0,5% Fluornatrium.

Tabelle III.

Darmschleimhautextrakt ccm	5 ccm Rohrzucker-Blutserum mit 0,5% Fluornatrium		mit Toluol	
	Drehung	Reduktion	Drehung	Reduktion
0,1	+ 15′	+	+ 15′	+
0,05	+ 15′	+	+ 15′	+
0,025	+ 17′	+	+ 16′	+
0,01	+ 17′	+	+ 17′	+
0,005	+ 18′	+	+ 18′	+
0,0025	+ 19′	+	+ 19′	+
0,001	+ 19′	+	+ 19′	+
0,0005	+ 20′	+	+ 20′	+
0,00025	+ 21′	+	+ 23′	+
0,0001	+ 22′	+	+ 23′	+
0,00005	+ 24′	+	+ 25′	+
0,000025	+ 26′	+	+ 26′	+

0,5% Fluornatrium beeinflußt die Invertinwirkung nicht mehr als Toluol.

Schon diese beiden Versuche zeigen, wie kleine Mengen von Invertin sich im Blutserum nachweisen lassen. Noch geringer waren diese anscheinend in dem folgendem Versuche.

Versuch 4.

Es wurden gemischt 10 ccm, ca. 2% Rohrzucker enthaltendes Hammelblutserum mit 1 ccm des entsprechend verdünnten Chloroformwasserextraktes der Dünndarmschleimhaut von Kaninchen.

	Darmschleimhautextrakt ccm	10 ccm Rohrzucker-Hammelblutserum Drehung	Reduktion
1	1,0	− 10	+++
2	0,1	+ 12′	+++
3	0,05	+ 14′	+++
4	0,01	+ 17′	+++
5	0,005	+ 18′	+++
6	0,001	+ 18′	+++
7	0,0005	+ 19′	+++
8	0,0001	+ 20′	++
9	0,00005	+ 22′	+
10	0,00001	+ 28′	+
11	0,000005	+ 30′	−
12	0,000001	+ 30′	−
13	0,0	+ 30′	−

Die von uns zum Invertinnachweis verwendete Methode besitzt also einen sehr hohen Grad von Empfindlichkeit.

3. Versuche an jungen Hunden mit wiederholten Injektionen kleiner Rohrzuckermengen.

Weinland hatte einem jungen, 3 Tage alten und einem 37 Tage alten Hündchen, und zwar ersterem während 29 Tagen täglich 6 g Rohrzucker pro Kilo Körpergewicht, letzterem während 12 Tagen von 4 auf 9 g pro Kilo Körpergewicht steigende, also sehr große Mengen von Rohrzucker in etwa 40%iger Lösung unter die Haut gespritzt. Die Hunde wurden durch Verbluten getötet. Eine Probe des Serums wurde mit Rohrzucker unter Zusatz von Toluol 24 Stunden in der Wärme stehen gelassen. Das mit essigsaurem Eisen enteiweißte Filtrat zeigte starke Trommersche Probe und gab beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin eine reichliche Abscheidung von Glucosazon. Eine polarimetrische Untersuchung wurde nicht gemacht. Im Hinblick auf die von Weinland angestellten Kontrollversuche konnte mit einer gewissen Berechtigung geschlossen werden, daß eine gewisse Zeit nach wiederholten, subcutanen Einspritzungen großer Mengen von Rohrzucker Invertin im Blute nachweisbar ist.

In den folgenden Versuchsreihen, die in Anlehnung an die Versuche E. Weinlands und unter dem Einfluß der Angaben von Abderhalden und Kapfberger nur mit kleineren Mengen von Rohrzucker an jungen Hunden angestellt wurden, kam ich zu einem ähnlichen Ergebnis.

Zu der ersten Reihe dienten drei kleine, 4 Wochen alte Pinscher aus einem Wurf.

Hund 1

wurde als Kontrolltier durch Entbluten getötet, sein Serum invertierte Rohrzucker nicht.

Hund 2, Körpergewicht 2800 g,

wurden vom 16. XI. bis 21. XI. 1912 8 ccm, vom 22. XI. bis 27. XI. 1912 10 ccm einer 10%igen, vom 28. XI. bis 1. XII. 1912 20 ccm einer 20%igen Rohrzuckerlösung unter die Haut gespritzt. Am 2. XII. 1912 Blutentnahme aus der Ohrvene, kein Invertin. Nach weiteren Injektionen stirbt der Hund. Bei der Sektion findet sich eine beiderseitige, parenchymatöse Nephritis[1]) und starker Ascites.

[1]) Vgl. G. Japelli, Jahresber. f. Tierchemie 35, 79, 1905. — E. Heilner, Zeitschr. f. Biol. 56, 81, 1911.

Hund 3. Körpergewicht 2000 g.

Vom 16. XI. bis 21. XI. täglich 4 ccm, vom 22. XI. bis 4. XII. täglich 10 ccm der 10%igen Rohrzuckerlösung subcutan. Am 5. XII. Blut aus Ohrläppchen durch Anschneiden der Vene. Prüfung auf Invertin positiv.

Am 8. XII. wurden unter Äthernarkose 20 ccm aus der Art. femoralis mittels eingebundener Kanüle entnommen.

8. XII. 12^h 5 ccm des völlig klaren Serums werden mit 5 ccm einer 4%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

a) 5 ccm sofort auf das 3fache verdünnt und enteiweißt. α im 1-dcm-Rohr + 37′, Trommers R. positiv, spärlich Osazone nach dem Erkalten.

b) 5 ccm nach 24stündiger Digestion ebenso behandelt. α im 1-dcm-Rohr + 22′, Trommers R. stark, Glucosazon scheidet sich schon während des Erhitzens ab.

Die Rohrzuckerinjektionen wurden nicht fortgesetzt, am 10. I. 1913 ließ sich kein Invertin mehr im Blute nachweisen. Ebensowenig am 24. I. 1913. Zuletzt wurden demselben Hunde von neuem täglich 10 ccm der 10%igen Rohrzuckerlösung unter die Haut gespritzt. Am 27. I. war die Probe auf Invertin negativ, 3. II. zweifelhaft, am 9. II., also nach 15 Tagen, positiv, aber nicht stark. — Derselbe Versuch wurde mit fünf 4 Wochen alten Bulldoggen aus einem Wurf wiederholt.

Hund 4, Körpergewicht 1750 g,

erhält vom 25. I. 1913 bis 5. II. 1913 täglich subcutan 10 ccm einer 20%igen Rohrzuckerlösung.

Am 6. II. 1913, also am 13. Tage, wird in Äthernarkose Blut aus der Art. fem. entnommen.

Es werden gemischt 4 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung, 1 ccm NaCl-Lösung.

6. II. 1913 5^h nachm. 5 ccm + 10 ccm Wasser mit essigsaurem Eisen enteiweißt, α im 1-dcm-Rohr + 26′, Trommers R. positiv, Glucosazon spärlich.

8. II. 1913 12^h. 5 ccm ebenso behandelt. α im 1-dcm-Rohr + 16′, Trommers R. stark. Glucosazon schon während des Erhitzens.

6. II. 1913 5^h. 1 ccm Serum, 1 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung, 5 ccm 0,9%ige NaCl-Lösung ohne weiteres polarisiert. α + 22′.

7. II. 11^h α + 18′. 8. II. 3^h α + 16′. Das Serum enthält also Invertin.

Hund 5, Körpergewicht 1200 g,

erhält ebenfalls vom 25. I. bis 5. II, also 11 Tage lang, täglich 10 ccm 10%ige Rohrzuckerlösung subcutan, Blut aus Art. fem.

4 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung, 1 ccm NaCl-Lösung.

6. II. 5^h mit 10 ccm Wasser, enteiweißt. α + 26′, Trommers R. positiv, Osazon spärlich.

8. II. 12^h mit 10 ccm Wasser, enteiweißt. α + 24′, Trommers R. stark, Osazon reichlich.

Bei direkter Polarisation eines Gemisches von 1 ccm desselben Serums, 1 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung und 5 ccm 0,9%ige NaCl-Lösung, läßt sich nach 24 und 48 Stunden kein Unterschied erkennen.

Hund 6

erhält während 16 Tagen täglich 10 ccm 20%ige Rohrzuckerlösung. Versuchsanordnung wie oben. Bei der Prüfung auf Invertin sinkt in der enteiweißten Flüssigkeit die Drehung in 2 Tagen von 26′ auf 22′.

Ähnlich war das Ergebnis bei Hund 7.

Im Blute des Kontrollhundes 8, dem kein Rohrzucker eingespritzt worden war, ließ sich kein Invertin nachweisen.

Wenn man also jungen Hunden eine Zeitlang kleinere oder, wie dies Weinland tat, größere Mengen von Rohrzucker unter die Haut spritzt, so war etwa nach 12 bis 15 Tagen Invertin im Blute nachweisbar. Die Fermentmengen sind aber in obigen Versuchen, besonders im Vergleich mit den später mitzuteilenden, sehr klein.

4. Versuche an ausgewachsenen Hunden und Kaninchen mit Injektionen kleiner Rohrzuckermengen.

Da nach den Angaben von Abderhalden und Kapfberger das Invertin sehr schnell nach der Injektion kleiner Rohrzuckermengen auftreten sollte, spritzte ich in den folgenden und anderen Versuchen sowohl Hunden wie Kaninchen kleine Mengen von Rohrzucker teils unter die Haut, teils in die Vene. Ich konnte mich aber in keinem Falle von dem Auftreten des Invertins überzeugen.

Hund 9. Körpergewicht 9,1 kg.

12. XI. 1912, 5^h. 10 ccm 10%ige Rohrzuckerlösung subcutan.
Blutentnahme: 13. XI., 15. XI., 16. XI., 19. XI. Kein Invertin.
23. XI. 1912. 5 ccm 20%ige Rohrzuckerlösung subcutan.
Blutentnahme: 25. XI. Kein Invertin.
1. XII. 1912. 1 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung in die Ohrvene.
Blutentnahme: 2. XII. Kein Invertin.

Hund 10. Körpergewicht 20 kg.

21. XII. 1912. 5 ccm 20%ige Rohrzuckerlösung subcutan.
Blutentnahme: 23. XII. Kein Invertin.

Hund 11. Körpergewicht 18 kg.

17. XII. 1912. 4 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung in die Ohrvene.
Blutentnahme: 18. XII. Kein Invertin.

Kaninchen 1.

9. XII. 1912. 10 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung mit 0,9% NaCl subcutan.

Blutentnahme: 10. XII. Kein Invertin.

Kaninchen 2.

12. bis 15. XI. 1912 je 2 ccm, 16. bis 27. XI. je 10 ccm 10%ige Rohrzuckerlösung in die Ohrvene.

Blutentnahme: 28. XI. Kein Invertin.

Kaninchen 3.

21. bis 26. XI. 1912 täglich je 10 ccm 10%ige Rohrzuckerlösung in die Ohrvene.

Blutentnahme: 27. XI. Kein Invertin.

5. Versuche an Hunden und Kaninchen mit ein- oder mehrmaliger Injektion großer Zuckermengen. Wirkung des „Rohrzuckerimmunserums" auf Rohrzucker, Dextrose und Lävulose.

Es blieben aber noch die Versuche von Abderhalden und Brahm, in denen wiederholt größere Mengen von Rohrzucker injiziert worden waren. Eine genauere Betrachtung dieser Versuche zeigte, daß das Invertin in denjenigen Versuchen im Blute nachgewiesen wurde, wo eine längere Zeit seit den ersten Rohrzuckerinjektionen verstrichen war.

Hier trat die Ähnlichkeit mit dem Verhalten anderer Antigene in die Erscheinung und damit war für mich der Weg gezeigt, um auch am erwachsenen Hund zu sicheren Ergebnissen zu gelangen.

Der folgende Versuch erwies sich als bedeutungsvoll, insofern er nicht nur das Auftreten von Invertin auch im Blute des ausgewachsenen Hundes nach der parenteralen Rohrzuckerzufuhr zeigte, sondern auch auf überraschende, neue, bisher ohne jede Analogie dastehende Eigenschaften des Rohrzuckerimmunserums hinwies.

Dem Hund 11 (Körpergewicht 18 kg), dem, wie bereits erwähnt, am 17. XII. 1912 ohne Erfolg 4 ccm einer 5%igen Rohrzuckerlösung in eine Ohrvene eingespritzt worden waren, wurden am 18. I. 1913 15 g Rohrzucker in möglichst wenig Wasser gelöst in die Ohrvene gespritzt. Am folgenden Tage war kein Invertin im Blute vorhanden.

Es wurde nun bis zum 10. II. 1913 gewartet, aber zunächst noch keine Blutprobe entnommen. Am 10. und 11. II. 1913 wurden je 20 g Rohrzucker unter die Haut gespritzt. Es geschah dies, um zu sehen, ob ein in obiger Weise vorbehandelter Hund, ähnlich wie die jungen Hunde in den Versuchen von Weinland, ein größeres Zerstörungsvermögen für Rohrzucker besaß, als ein normaler Hund. Zu diesem Zwecke wurde der Harn in einem Gefäße, das etwas alkoholische Thymollösung enthielt, aufgesammelt. Die Untersuchung des Harns ergab die auffallende Tatsache, daß der Harn stark links drehte.

Datum 1913	Harnmenge	α im 1-dcm-Rohr nach Behandlung mit Bleizucker	Reduktion	Glucosazon
11. II.	600	0	0	0
12.	700	-1^0	stark	reichlich
13.	600	$-1^0\,30'$	„	„
14.	600	$-50'$	„	„
15.	800	0	0	0

Der linksdrehende Harn gab starke Seliwanoffsche Probe, er gärte mit Hefe und ließ beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin typisches Glucosazon ausfallen. Die Schnelligkeit, mit der sich aus dem Alkoholextrakt das Methylphenylosazon ausschied, und dessen Analyse bewies die Anwesenheit von Lävulose. Diese Beobachtung soll der Ausgang weiterer Untersuchungen bilden. Zunächst nahmen uns aber andere Versuche in Anspruch.

Am 12. II. 1913 wurde Blut durch Punktion aus der Beinvene gewonnen.

5 ccm Blutserum, 5 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung, Toluol.

α sofort $+30'$. Reduktion schwach. Glucosazon spärlich.

α nach 20 Std. $-1^0\,20'$. „ sehr stark. „ während des Erhitzens in Masse ausfallend.

Am 13. II. 1913. Neue Blutprobe von etwa 30 ccm.

5 ccm Blutserum, 5 ccm 5%ige Rohrzuckerlösung, Toluol.

α sofort $+30'$, nach 20 Stunden -2^0.

Der Rohrzucker war offenbar vom Blute des mit Rohrzucker vorbehandelten Hundes gespalten worden. Im höchsten Grade auffallend war aber die Stärke der Linksdrehung. Unmöglich konnte nur eine Spaltung des Rohrzuckers stattgefunden

haben. War die linksdrehende Substanz Lävulose, so mußte auch die aus dem Rohrzucker entstandene Dextrose in Lävulose und in eine Substanz übergeführt worden sein, die noch stärker als Lävulose links drehte, oder es mußten sich, was zunächst sehr unwahrscheinlich erschien, aus den Eiweißkörpern des Blutserums linksdrehende Substanzen gebildet haben.

Um diese Vermutung zu prüfen, wurden mit dem Serum vom 13. II. 1913 noch folgende 2 Proben angestellt.

1. 5 ccm Serum, 5 ccm 0,9%ige Kochsalzlösung, Toluol.

α sofort $+5'$, nach 20 Stunden $-15'$.

Das Blutserum enthielt also zu einer Zeit, in der im Harn Lävulose ausgeschieden wurde, in geringer Menge eine rechtsdrehende Substanz, die bei der Digestion in eine sehr stark linksdrehende überging.

2. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.

α sofort $+26'$, nach 20 Stunden $-2^0\,10'$.

Die linksdrehende Flüssigkeit gab die Seliwanoffsche Probe stark.

Es fand also tatsächlich durch das „Rohrzuckerimmunserum" eine Umwandlung des Traubenzuckers in einen linksdrehenden Körper statt. Die Linksdrehung ist aber so groß, daß es sich nicht nur um eine Umwandlung der Dextrose in Lävulose handeln kann.

Dieselbe Wirkung zeigte das Serum noch 7 Tage später.

20. II. 1913. Blutentnahme.

1. 5 ccm Serum, 5 ccm 0,9%ige NaCl-Lösung, Toluol.

Nach 24stündiger Digestion α $0'$, die Flüssigkeit reduziert nicht, erst beim Stehen scheiden sich spärliche Glucosazonkrystalle ab.

2. 10 ccm Serum, 10 ccm 10%iger Traubenzucker, Toluol.

Probe 6fach verdünnt und enteiweißt.

α sofort $+22'$, nach 1 Tage $-40'$, nach 6 Tagen $-1^0\,33'$, nach 9 Tagen $-1^0\,35'$, nach 14 Tagen $-1^0\,35'$.

Am 7. III. 1913 spaltete das Serum noch immer Rohrzucker.

5 ccm der mit Toluol geschüttelten 2%igen Rohrzucker- und 0,9%igen NaCl-Lösung wurden mit fallenden Mengen Serum versetzt und in den Brutschrank gestellt. Nach 1, 5 und 12 Stunden wurde enteiweißt und mit Trommerscher und Osazonprobe untersucht. Nach 1 Stunde ließ sich keine Spaltung nachweisen, nach 5 Stunden war das Serum bis zu 0,025 ccm, nach 12 Stunden bis zu 0,004 ccm wirksam.

Diese Beobachtungen fanden ihre Bestätigung durch die folgenden Versuche.

Hund 10. Körpergewicht 20 kg (s. o.).

11. und 12. II. 1913 je 20 g Rohrzucker in Wasser gelöst, subcutan.

Blutentnahme: 24. II.

1. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker, Toluol.
α sofort + 12′, nach 48 Stunden — 30′. 6fach verdünnt.
2. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α sofort + 26′, nach 48 Stunden — 1°. 3fach verdünnt.

Hund 4. Körpergewicht 1750 g (s. o.).
16. II. 1913. 10 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser subcutan.
Blutentnahme: 24. II.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker.
α sofort + 16′, nach 48 Stunden — 47′.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.
α sofort + 10′, nach 48 Stunden — 50°.

Hund 5. Körpergewicht 1300 g (s. o.).
4. III. 1913. 10 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser subcutan.
14. III. 1913. Blutentnahme. L.-I. 0,25.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.
α sofort + 22′, nach 24 Stunden + 2′.

Kaninchen.
20. II. 1913. Blutentnahme. Kein Invertin. 10 g Rohrzucker in die Ohrvene.
28. II. Kein Invertin, keine Wirkung auf Traubenzucker.
8. III. Invertin vorhanden. L.-I. 0,1.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.
α sofort + 13′, nach 48 Stunden — 9′.
12. III. Invertin stärker. L.-I. 0,016.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.
α sofort + 13′, nach 48 Stunden — 45′.

Die Rohrzuckerimmunsera, die in diesen und anderen Versuchsreihen erhalten wurden, wirkten, wie sich durch Bestimmung des „Limes"-Wertes (s. o.) leicht feststellen ließ, mit verschiedener Stärke auf den Rohrzucker ein.

Als nun ein solches stark wirkendes Serum mehrere Tage mit Traubenzucker gestanden hatte, fand sich, daß die anfangs aufgetretene Linksdrehung wieder in eine Rechtsdrehung übergegangen war, eine Beobachtung, die dann auch bei anderen Seren gemacht wurde.

Hund 18, passiv immunisiert.
24. VI. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α nach 15 Stunden — 50′, nach 4 Tagen + 1° 25′

Hund 12, aktiv immunisiert.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α nach 15 Stunden — 30′, nach 4 Tagen + 2°.

Kaninchen 8, passiv immunisiert.

17. IV. 1913. 30 ccm Serum, 30 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.

2 ccm des Gemisches, mit 10 ccm Wasser verdünnt und enteiweißt.

α sofort + 10′, am 18. IV. — 15′, am 19. IV. — 20′, am 21. IV. — 13′, am 22. IV. — 10′, am 23. IV. + 6′, am 25. IV. + 33′, am 28. IV. + 33′.

Diese Beobachtungen legten es nahe, das Rohrzuckerimmunserum auch auf Lävulose einwirken zu lassen. Hierbei ergab sich, was nach den vorhergehenden Versuchen nicht überraschen konnte, daß durch das Rohrzuckerimmunserum die Lävulose in eine rechtsdrehende Substanz übergeführt wurde.

10 ccm Rohrzuckerimmunserum, 10 ccm 5%ige Lävulose, Toluol.

α sofort — 33′, nach 2 Tagen + 29′, neben Glucosazon in heißem Wasser leichtlösliche „Isomaltosazon" krystalle.

11. VIII. 1913. 284 ccm Rohrzuckerimmunserum vom Hunde mit 60 ccm 50%iger Lävuloselösung.

Eine Probe, 3fach verdünnt, mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid enteiweißt. α — 1°12′.

Dasselbe am 29. VIII. 1913: α + 1°10′.

Betrachten wir nun die in diesem Abschnitt mitgeteilten Versuche im Zusammenhang mit denen des vorhergehenden Abschnittes, so sehen wir, daß bei jungen Hunden nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker Invertin im Blute auftritt, wenn ihnen eine bestimmte Zeitlang größere Mengen Rohrzucker — Versuche von Weinland — oder kleinere Mengen von Rohrzucker — eigene Versuche — zugeführt werden.

Die Angaben von Abderhalden und Kapfberger, daß bei ausgewachsenen Hunden schon sehr kurze Zeit nach parenteraler Zufuhr sehr kleiner Mengen von Rohrzucker Invertin im Blute nachweisbar ist, konnte ich nicht bestätigen. Dagegen stimmen meine Beobachtungen mit denen von Abderhalden und Brahm überein, soweit es sich um die Wirkung großer Zuckermengen handelt. Ich sehe aber einen Fortschritt meiner Versuche gegenüber denen der letzterwähnten Forscher darin, daß sie an Stelle der Unsicherheit, die jenen Versuchen anhaftete, eine volle Sicherheit bringen: Es sind große Mengen Rohrzucker in eine Vene oder unter die Haut zu spritzen, und es ist mit der Prüfung auf Invertin eine bestimmte, noch näher festzustellende Zeit zu warten, wenn man eine entsprechend starke Invertinwirkung erhalten will. Weiter wurde

gezeigt, daß das Rohrzuckerimmunserum auch auf Traubenzucker und Lävulose eine völlig neue und bisher unbekannte Wirkung ausübt. Traubenzucker geht zuerst in eine linksdrehende, dann weiter in eine rechtsdrehende Substanz über. Dieselbe rechtsdrehende Substanz entsteht aus Lävulose.

Es gelingt auch ohne Schwierigkeiten, die neugebildeten Stoffe rein darzustellen. Soweit die bisherigen Untersuchungen reichen, ist die linksdrehende Substanz Lävulose, die rechtsdrehende ein Disaccharid. Nähere Mitteilungen erfolgen demnächst.

6. Wirkung des Rohrzuckerimmunserums auf Milchzucker, Galaktose und Maltose.

Ist das Rohrzuckerimmunserum spezifisch in dem Sinne, daß es nur auf Rohrzucker einwirkt? Diese Frage ist zu verneinen.

Das Rohrzuckerimmunserum spaltet den Milchzucker[1]). Hierbei wird anscheinend, in Übereinstimmung mit den oben mitgeteilten Beobachtungen, die entstandene Dextrose in Lävulose übergeführt. Die Lösung wird infolgedessen linksdrehend.

10 ccm Rohruckerimmunserum vom Hunde, 10 ccm 5%iger Milchzucker, Toluol, 3mal verdünnt und enteiweißt.

α alsbald nach der Mischung $+25'$, nach 3 Tagen $-15'$; die Flüssigkeit liefert reichlich Glucosazon und gibt Seliwanoffs Probe.

Kaninchen 6, passiv immunisiert.

15. IV. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Milchzucker, Toluol.

α sofort $+22'$, nur Lactosazon; nach 48 Stunden $-55'$, glucosazon- und maltosazonähnliche Krystalle.

Auch auf Galaktose wirken die Rohrzuckerimmunsera ein, und zwar bewirken sie eine Zunahme der Rechtsdrehung.

10 ccm Serum vom Hunde (aktiv immunisiert), 10 ccm 5%ige Galaktose, Toluol.

α sofort $+33'$, nach 2 Tagen $+56'$; außer Galaktosazon isomaltosazonähnliche Krystalle.

Hund 12, passiv immunisiert.

22. IV. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Galaktose.

α sofort $+33'$, nach 2 Tagen $+1°53'$.

Kaninchen 6, passiv immunisiert.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Galaktose.

α sofort $+31'$, nach 2 Tagen $+1°37'$.

---

[1]) Vgl. auch Abderhalden und Kapfberger, l. c.

Die Maltasewirkung der Rohrzuckerimmunsera war nicht gesteigert, wie die folgenden Versuche zeigen.

Versuch 1.

Serum[1]) ccm	2,2%ige Maltose ccm	Drehungswinkel zu Anfang	nach 5 Std.	nach 20 Std.	nach 25 Std.	Abnahme
0,1	9	2°43′	2°32′	trübe	trübe	
0,064	9	2°45′	2°45′	2°27′	2°25′	20′
0,04	9	2°45′	2°45′	2°38′	2°35′	10′
0,025	9	2°45′	2°45′	2°40′	2°39′	6′
0,016	9	2°45′	2°45′	2°43′	2°39′	6′
0,01	9	2°45′	2°45′	2°43′	2°41′	4′
0,0064	9	2°45′	2°45′	2°45′	2°43′	2′
0,004	9	2°45′	2°45′	2°45′	2°45′	0′

Versuch 2.

Serum[2]) ccm	2,2%ige Maltose ccm	Drehungswinkel zu Anfang	nach 20 Std.	nach 25 Std.	Abnahme
0,1	9	2°45′	2°29′	2°29′	16′
0,064	9	2°45′	2°35′	2°35′	10′
0,04	9	2°45′	2°38′	2°38′	7′
0,025	9	2°45′	2°42′	2°42′	3′
0,016	9	2°45′	2°45′	2°45′	0′

7. Wirkung des Rohrzuckerimmunserums auf Stärke.

Das Rohrzuckerimmunserum wirkte unvergleichlich viel energischer als das Normalserum auf lösliche Stärke, indem es diese in Dextrine und Traubenzucker verwandelte.

Die Prüfung auf Amylase (Diastase) erfolgte nach dem Verfahren von Wohlgemuth[3]): 1% lösliche Stärke (von C. A. F. Kahlbaum) wurde unter Kochen in einer 0,9%igen NaCl-Lösung gelöst. Die fast klare Flüssigkeit wurde am folgenden Tage von einem etwaigen Niederschlage abgegossen und mit etwas Toluol geschüttelt. Zu 5 ccm dieser Lösung wurden fallende Mengen Serum hinzugesetzt. Das Gemisch blieb im Brutschrank stehen und wurde nach einer bestimmten Zeit mit einer Jodjodkaliumlösung geprüft. Limes-Amylase (L.-A.) bezeichnet die Serummenge, die nach 24stündiger Einwirkung noch eine Veränderung der Stärke erkennen ließ.

Bei einem normalen Serum vom Hunde ist der Grenzwert für die Amylasewirkung etwa 0,016 bis 0,025 ccm, beim Serum des Kaninchens 0,01 bis 0,064 ccm. Bei demselben Tiere

[1]) Serum von Hund 11 (s. o.) vom 7. III. 1913.
[2]) Stark wirksames Serum von Hund 10 (s. o.) vom 8. III. 1913.
[3]) Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

— Hund oder Kaninchen — ist dieser Wert ein annähernd konstanter und wird durch 1 bis 8tägigen Hunger und Nahrungsaufnahme, wie ich mich durch eine Reihe von Versuchen überzeugte, nicht beeinflußt. In dieser Beziehung kann ich die Angaben von Wohlgemuth, von Möckel und Rost[1]) u. a. bestätigen. Nur Abderhalden und Rathsmann[2]) geben an, daß der Diastasegehalt des Blutplasmas nach Eingabe großer Stärkemengen per os eine Zunahme zeigt.

Nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker genügte eine Menge von 10 bis 11 ccm, um 5 ccm der 1%igen Stärkelösung innerhalb 24 Stunden vollkommen umzuwandeln.

Blut von Hund 11 (s. o.)

Vor der Rohrzuckereinspritzung		Nach der Rohrzuckereinspritzung				
Menge des Serums ccm	Jodreaktion 14. I. und 15. I. 1913 nach 24 Std.	Menge des Serums ccm	Jodreaktion 24. II. 1913 nach 15 Std.	Jodreaktion 7. III. 1913 nach 3 Std.	Jodreaktion 7. III. 1913 nach 20 Std.	Jodreaktion 7. III. 1913 nach 24 Std.
0,1	gelb	10^{-1}	gelb	violett	gelb	gelb
0,064	„	10^{-2}	„	„	„	„
0,04	„	10^{-3}	„	blau	„	„
0,025	violett	10^{-4}	„	—	„	„
0,016	blau	10^{-5}	„	—	„	„
		10^{-6}	„	—	„	„
		10^{-7}	rot	—	„	„
		10^{-8}	violett	—	„	„
		10^{-9}	blau	—	„	„
		10^{-10}	—	—	„	„
		10^{-11}	—	—	„	„
		10^{-12}	—	—	„	„
		10^{-13}	—	—	violett	violett
		10^{-14}	—	—	blau	„

Bei Hund 10 (s. o.) war am 26. II. 1913, also 14 Tage nach der Rohrzuckerinjektion, Limes-Amylase ebenfalls 10^{-11}, ebenso am 4. III. und 8. III.

Hund 4 (s. o.) erhielt am 16. II. 1913 eine nochmalige subcutane Injektion von 10 g Rohrzucker. Am 24. II. 1913 war Limes-Amylase 10^{-11}.

Hund 5 (s. o.) erhielt am 4. III. 1913 noch einmal 10 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser subcutan. Am 14. III. 1913 Limes-Amylase 10^{-13}.

Kaninchen (s. o.). 20. II. 1913 10 g Rohrzucker in 10 ccm Wasser gelöst in die Ohrvene.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 449, 1910. — G. Hirata, diese Zeitschr. 27, 385, 1910.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 369, 1911.

Serum	20. II.	21. II.	28. II.	8. III.	12. III.
0,4	gelb	gelb	gelb	gelb	gelb
0,25	„	„	„	„	„
0,16	rot	rot	rot	„	„
0,1	„	violett	„	„	„
0,064	violett	„	violett	„	„
0,04	blau	blau	blau	„	„
0,025	—	—	—	„	„
0,016	—	—	—	blau	„
10^{-8}	—	—	—	—	„
10^{-9}	—	—	—	—	blau
10^{-10}	—	—	—	—	„

Während in den angeführten Versuchen anscheinend ohne weiteres die Zunahme der Amylasewirkung gefunden wurde, blieb sie in einer Reihe späterer Versuche völlig aus. Dieser Widerspruch war zunächst völlig unerklärlich, bis sich herausstellte, daß ein Serum, das, frisch untersucht, nur die Wirkung eines Normalserums zeigte, eine außerordentlich gesteigerte Wirksamkeit entfaltete, nachdem es 4 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

Man könnte dies so erklären, daß im Immunserum eine Proamylase enthalten ist, die, um wirksam zu werden, erst vor dem Mischen mit der Stärkelösung aktiviert werden muß.

Andere Beobachtungen deuteten darauf, daß diese Aktivierung auch nach der Mischung mit der Stärke erfolgen kann. Blutserum von Hund 11 (s. o.), am 18. III. 1913 gewonnen, wurde mit Stärkelösung gemischt. Nach 3 und ebenso nach 5 Stunden betrug die kleinste Menge des noch wirksamen Serums 10^{-2} ccm, nach 15 Stunden und ebenso nach 24 Stunden 10^{-12}. Es hatte also scheinbar von selbst in auffallender Weise eine ganz außerordentliche Steigerung der Wirksamkeit stattgefunden.

Es wurden aber auch Beobachtungen gemacht, in denen das Serum, nachdem es mehrere Stunden vor dem Abheben gestanden hatte, in seiner Wirkung nicht gesteigert war, während es bereits starke Wirkung auf Rohrzucker äußerte. Die Bildung der Immundiastase hängt also anscheinend von anderen Bedingungen ab als die des Invertins, wofür auch andere, weiter unten mitzuteilende Tatsachen sprechen. —

Die in Abschnitt 6 und 7 mitgeteilten Versuche zeigen uns, daß die antigene Wirkung des Rohrzuckers insofern nicht spezifisch ist, als das unter dem Einfluß des Rohrzuckers ent-

standene Immunserum nicht nur auf Rohrzucker und seine Spaltungsprodukte einwirkt, sondern auch noch andere Fermente enthält. Es spaltet den Milchzucker. Nach den bisherigen Erfahrungen der Chemiker ist es aber undenkbar, daß Rohrzucker und Milchzucker von denselben Enzymen gespalten werden. Das Rohrzuckerimmunserum wirkt ferner auf Galaktose. Galaktose und Lävulose sind aber chemisch so verschiedene Körper, daß auch hier die wirksamen Agenzien verschieden sein müssen. Das Rohrzuckerimmunserum wandelt auch meist in ungleich viel kräftigerer Weise die Stärke um als das normale Serum.

8. Inaktivierung und Reaktivierung der Enzyme des Rohrzuckerimmunserums.

Das Rohrzuckerimmunserum verlor seine Wirkung auf Rohrzucker und dessen Spaltungsprodukte, wenn es eine Zeitlang bei Zimmertemperatur gestanden hatte, gewann aber seine Wirksamkeit bei Zusatz von Normalserum wieder.

Hund, passiv immunisiert. Das Serum steht bei Zimmertemperatur vom 19. V. bis 22. V. 1913.

10 ccm Serum, 10 ccm 5%ige Lävulose, Toluol.

22. V. 1913. 2 ccm mit 10 ccm Wasser verdünnt α — 18′.

23. V. 1913. 2 „ „ 10 „ „ „ α — 18′

mit 2 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt:

24. V. 1913. 2 ccm mit 10 ccm Wasser verdünnt α + 20′.

Durch halbstündiges Erwärmen auf 55 bis 57° wurde das Immuninvertin sehr stark geschwächt. Es zeigte in dieser Beziehung keinen wesentlichen Unterschied gegenüber dem Invertin der Darmschleimhaut.

Blutserum von Hund 10. 10. III. 1913.

Dünndarmextrakt von Hund. 12 g Mucosa, 24 ccm 0,9% NaCl-Chloroformwasser.

Serum ccm	Inversion vor Erwärmen auf 57°	Inversion nach Erwärmen auf 57°	Extrakt ccm	Inversion vor Erwärmen auf 57°	Inversion nach Erwärmen auf 57°
1,00	+	+	0,40	+	+
0,64	+	+	0,20	+	+
0,40	+	—	0,10	+	+
0,25	+	—	0,05	+	—
0,16	+	—	0,01	+	—
0,10	+	—	0,005	—	—
0,064	—	—			

Die Wirkung auf Dextrose und Lävulose ging durch halbstündiges Erwärmen auf 55° verloren. Auch das in dieser Weise inaktivierte Serum erlangte durch Zusatz von Normalserum seine Wirksamkeit wieder.

0,5 ccm aktives Serum, 0,5 ccm NaCl-Lösung, 2,5 ccm 5 %ige Traubenzuckerlösung nach 24 stündigem Stehen im Brustchrank mit 10 ccm Wasser versetzt, enteiweißt . . . . . α — 35′.

0,5 ccm inaktives Serum ebenso . . . . . α + 20′.

0,5 ccm inaktives Serum, 0,5 ccm Normalserum, 2,5 ccm 5 %iger Traubenzucker . . . . . α — 30′.

0,5 ccm aktives Serum, 0,5 ccm NaCl-Lösung, 2,5 ccm 5 %iger Lävuloselösung . . . . . α + 40′.

0,5 ccm inaktives Serum ebenso . . . . . α — 38′.

0,5 ccm inaktives Serum, 0,5 ccm Normalserum, 2,5 ccm 5 %ige Lävuloselösung . . . . . α + 20′.

Die Wirkung der Immunamylase verschwand ebenfalls, wenn man das Serum 3 bis 4 Tage bei Zimmertemperatur stehen ließ.

Blut von Hund 5 (s. o.)

24. II. 1913. Limes-Diastase 10^{-11}. Dasselbe Blut am

26. II. 1913. Limes-Diastase 10^{-11}. Am

28. II. 1913. Limes-Diastase 0,1 ccm.

Hierdurch unterscheidet sich die Immunamylase von der Normalamylase, die sich nach den Beobachtungen Wohlgemuths und meinen eigenen Erfahrungen nicht verändert, auch wenn das Serum wochenlang im Brutschrank steht, vorausgesetzt, daß es durch Toluol vor der bakteriellen Zersetzung geschützt ist. So war z. B. bei Untersuchung des Blutserums von Hund 9 (s. o.) am 1. III. 1913 L.-A. des frischen Serums 0,04. Derselbe Wert wurde gefunden, nachdem dieses Serum unter Toluolzusatz 3 Wochen bei Zimmertemperatur bzw. im Brutschrank gestanden hatte.

Ein weiterer Unterschied zwischen der Normal- und der Immunamylase beruht auf dem Verhalten bei der Erwärmung des Serums.

Die Normalamylase zeigte eine unveränderte Wirksamkeit, nachdem das Serum $^1/_2$ Stunde im Wasserbade auf 57° erwärmt worden war[1]). L.-A. eines normalen Hundeserums war vor und nach dem Erwärmen 0,025; ähnlich verhielt sich normales Kaninchenserum.

[1]) Vgl. A. Pugliese, Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 129, 1897.

Serum ccm	Jodreaktion nach 24 Std. unverändert	auf 57° erwärmt
0,40	gelb	gelb
0,25	"	"
0,16	"	"
0,10	rot	rot
0,064	"	"
0,04	violett	violett
0,025	"	"
0,016	blau	blau

Im Immunserum wird dagegen die Amylase schon durch halbstündiges Erwärmen auf 48° geschwächt. Nach Erwärmen auf 57° zeigt das Immunserum etwa die Wirkung des Normalserums: L.-A. eines Immunserums war vor dem Erwärmen 10^{-11}, nach dem Erwärmen auf 48° 10^{-7}, auf 53° erwärmt 10^{-2}, auf 57° erwärmt 10^{-1}.

Auch die Amylasewirkung des durch Erwärmen inaktivierten Serums läßt sich durch Zusatz von Normalserum wieder hervorrufen.

Zuerst wurde folgendermaßen verfahren: Zu verschiedenen Verdünnungen des inaktivierten Immunserums wurden je 0,025 ccm des frischen normalen Serums hinzugefügt, eine Menge, die eben nicht mehr diastatisch wirkte. Darauf wurden je 5 ccm Stärkelösung hinzugegeben und die Mischungen für 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Trotz öfterer Wiederholung des Versuchs war das Ergebnis stets negativ.

Es wurden nun 5 ccm des inaktivierten Immunserums und 5 ccm des frischen Normalserums gemischt und 2 Stunden bei 37° stehen gelassen. Dann wurde die diastatische Wirkung des Serums austitriert. Zum Vergleiche dienten das Gemisch von inaktiviertem Immunserum und inaktiviertem Normalserum, das inaktive Serum und das normale Serum allein.

Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt: Blutserum von einem aktiv immunisierten Kaninchen. Serum $^1/_2$ Stunde auf 54° erwärmt. Blutserum von einem normalen Kaninchen.

Limes-Amylase.

Aktives Immunserum 10^{-12}.

Aktives Normalserum 10^{-1}.

Inaktiviertes Immunserum 10^{-1}.

Inaktiviertes Immunserum und gleiche Teile aktives Normalserum 10^{-11}.

Inaktiviertes Immunserum und gleiche Teile inaktiviertes Normalserum 10^{-1}.

9. Bildung eines Niederschlags bei der Einwirkung des Blutserums auf Stärke.

Wenn man das normale Blutserum oder das Rohrzuckerimmunserum in den oben angegebenen Mengenverhältnissen mit der Stärke-Chlornatriumlösung im Wärmeschrank stehen läßt, so bildet sich ein flockiger Niederschlag, der an die Präcipitinbildung der Immunsera erinnert.

Die Bildung dieses Niederschlags zeigte einen gewissen Parallelismus mit der Jodreaktion, indem der Niederschlag in denjenigen Proben auftrat, in denen eine Umwandlung der Stärke erfolgt. Zuweilen zeigte er sich aber auch noch in den Verdünnungen, wo mittels der Jodprobe eine Einwirkung des Serums auf die Stärke nicht mehr zu erkennen war.

Normalserum vom Hunde. 6. III. 1913 (normal).

Menge des Serums	Niederschlag nach			Jodreaktion nach		
	3 Std.	5 Std.	24 Std.	3 Std.	5 Std.	24 Std.
0,1	+	+	+	rot	gelb	gelb
0,064	+	+	+	violett	„	„
0,04	—	+	+	blau	rot	„
0,025	—	+	+	„	violett	„
0,016	—	—	+	„	blau	rot
0,01	—	—	+	„	„	blau
0,0064	—	—	—	„	„	„

Rohrzuckerimmunserum von Hund 11. 18. III. 1913.

Menge des Serums ccm	Niederschlag nach				Jodreaktion nach			
	3 Std.	5 Std.	15 Std.	24 Std.	3 Std.	5 Std.	15 Std.	24 Std.
10^{-1}	+	+	+	+	violett	rot	gelb	gelb
10^{-2}	+	+	+	+	„	violett	„	„
10^{-3}	—	—	+	+	blau	blau	„	„
10^{-4}	—	—	+	+	„	„	„	„
⋮								
10^{-12}	—	—	+	+	„	„	„	„
10^{-13}	—	—	—	—	„	„	blau	blau

Rohrzuckerimmunserum von Hund 10. 4. III. 1913.

Menge des Serums ccm	Niederschlag				Jodreaktion			
	nicht erwärmt	erwärmt auf 48°	53°	57°	nicht erwärmt	erwärmt auf 48°	53°	57°
0,25	+	+	+	+	gelb	gelb	gelb	gelb
0,1	+	+	+	+	„	„	„	„
10^{-2}	+	+	+	−	„	„	violett	blau
10^{-3}	+	+	−	−	„	„	blau	„
⋮								
10^{-7}	+	+	−	−	„	„	„	„
10^{-8}	+	−	−	−	„	blau	„	„
⋮								
10^{-11}	+	−	−	−	„	„	„	„
10^{-12}	−	−	−	−	blau	„	„	„

Dieser Niederschlag besteht anscheinend aus einer lockeren Verbindung eines Eiweißstoffes und Stärke. Erwärmt man ihn in der über ihm stehenden klaren Flüssigkeit, die keine Jodreaktion mehr zeigt, so löst sich der Niederschlag auf und man erhält auf Zusatz von Jod Blaufärbung. Die Stärke wird also anscheinend durch die Verbindung mit dem Eiweißkörper vor der Wirkung der Amylase bis zu einem gewissen Grade geschützt. Läßt man den Niederschlag im Gemisch aber längere Zeit stehen, so erhält man nach dem Erwärmen keine Blaufärbung mehr.

9. Übertragung des Rohrzuckerimmunserums von Tier auf Tier.

Die weitgehende Ähnlichkeit, die die Wirkung des Rohrzuckers mit anderen Antigenen zeigte, sowie die Ähnlichkeit des Rohrzuckerimmunserums in bezug auf die Möglichkeit der Inaktivierung und Reaktivierung veranlaßten mich auch zu Versuchen einer „passiven Immunisierung". Diese Versuche gelangen in vollkommenster Weise bei Hunden wie bei Kaninchen.

a) Homologe, passive Immunisierung.

Hund, 15 kg. Vor der Immunisierung wurde eine Blutprobe entnommen. Darauf wurden 5 ccm des durch Schlagen defibrinierten Blutes von Hund 11 in die Ohrvene injiziert. Letzterem waren am 18. I. 1913 18 g Rohrzucker in die Venen und am 20. II. und 21. II. 20 g unter die Haut gespritzt worden. Das Serum dieses Hundes zeigte L.-A. 10^{-11}.

Nach der Injektion zeigte die Amylase im Serum des Hundes folgendes Verhalten:

Wirksame Serummenge

vor der Injektion	am	7. III.	0,016	ccm
nach der Injektion	am	8. III.	0,0064	„
„ „ „	„	10. III.	0,00064	„
„ „ „	„	14. III.	0,0025	„
„ „ „	„	17. III.	0,01	„
„ „ „	„	1. IV.	0,016	„

Die Amylasewirkung stieg also nach der Injektion des Rohrzuckerimmunserums ganz außerordentlich, sank dann aber allmählich wieder auf die Norm zurück.

Auch auf Traubenzucker wirkte dieses Serum.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%igen Traubenzucker.

10. III. 1913. 5 ccm auf das dreifache verdünnt, enteiweißt $\alpha + 13'$, ebenso nach 48 Stunden $+ 0$, deutliche Seliwanoffsche Reaktion.

Kaninchen 6, 1,5 kg schwer, erhält am 11. IV. 1913 5 ccm Serum von Kaninchen 1, dem am 15. III. 1913 10 g, am 17. III. 5 g, am 20. IV. 2,5 g Rohrzucker in konzentrierter Lösung in eine Ohrvene gespritzt worden waren.

L.-Amylase.

Vor der Injektion 10^{-1}.

1	Stunde	nach der	Injektion	10^{-5},
24	Stunden	„ „	„	10^{-14},
3	Tage	„ „	„	10^{-14},
12	„	„ „	„	10^{-14},
23	„	„ „	„	10^{-14}.

L.-Invertin.

1 Stunde nach der Injektion 0,1.

1, 2 und 3 Tage nach der Injektion 0,01.

15. IV. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%igen Milchzucker, Toluol.
α sofort $+ 22'$, nur Lactosazon,
α nach 48 Stunden $- 55'$ Glucosazon und Maltosazon ähnliche Krystalle.

22. IV. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Galaktose, Toluol.
α sofort $+ 31'$,
α nach 48 Stunden $+ 1°37'$.

2. V. 1913. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%igen Traubenzucker, Toluol.
α sofort $+ 22'$,
α nach 48 Stunden $- 1°22'$.

Nach der Einspritzung des Rohrzuckerimmunserums waren also im Serum dieselben Fermente nachweisbar, die das eingespritzte Serum enthielt. Es handelt sich hierbei aber nicht darum, daß die Fermente des eingespritzten Serums im passiv immunisierten Tiere nur erhalten blieben. Dann hätte die

Fermentwirkung infolge der stattgehabten Verdünnung entsprechend schwächer sein müssen. Dies ist aber nicht der Fall. Die Fermentwirkungen waren offenbar nicht geringer als im Immunserum. Es muß also das Immunserum im Körper des mit ihm behandelten Tieres in irgendeiner Weise fermenterzeugend oder aktivierend gewirkt haben. Das zeigt auch das Verhalten der Amylase im Serum des immunisierten Hundes. Denn hier stieg die Amylasewirkung nach der Injektion von L.-A. 0,0064 auf L.-A. 0,00064, also etwa um das zehnfache. Ein weiteres Beispiel hierfür ist auch der unter b angeführte Versuch. —

Die passive Immunisierung gelingt auch mit dem durch Erhitzen inaktivierten Serum.

Kaninchen 7a, 1,3 kg schwer: L.-A. 0,1.

11. IV. 1913. Das Serum von Kaninchen 1, dessen L.-A. gleich 10^{-16} war, wurde $^1/_2$ Stunde auf 55° erhitzt. Dann wurden von ihm 5 ccm dem Kaninchen 7a in die Vene eingespritzt.

12. IV. Serum von Kaninchen 7a: L.-A. 10^{-18}.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.

α sofort + 22′ nach 2tägigem Stehen — 50′.

Auch wenn das Serum über Phosphorpentoxyd im Vakuumexsiccator eintrocknet und pulverisiert worden ist, ist es noch zur Immunisierung geeignet.

17. IV. 1913. Rohrzuckerimmunserum von Kaninchen 1, getrocknet und pulverisiert. 0,5 g in 5 ccm Wasser gelöst, werden dem Kaninchen 8 in die Vene gespritzt.

Nach 24 Stunden ist L.-A. dieses Kaninchens 10^{-18}.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.

α sofort + 22′, nach 48 Stunden — 40′.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lävulose, Toluol.

α sofort — 36′, nach 48 Stunden + 1°1′.

b) Heterologe, passive Immunisierung.

Als Beispiel für eine heterologe, passive Immunisierung mit Rohrzuckerimmunserum sei zunächst der folgende Versuch angeführt.

Hund 12 wurden am 11. IV. 1913 10 ccm des frischen Kaninchenserums Nr. 1 (L.-A. 10^{-16}) in eine Vene gespritzt. Am 12. IV. Blutentnahme durch Venenpunktion am Bein.

12. IV. L.-A. 10^{-18}, L.-I. 0,025.
14. IV. L.-A. 10^{-17}, L.-I. 0,001.
22. IV. L.-A. 10^{-17}.
13. V. L.-A. 10^{-18}..

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
3 mal verdünnt, enteiweißt sofort α + 22′,
nach 25 Stunden α + 1°, nur „Isomaltosazon".
15. V. L.-A. 10^{-13}.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α sofort + 22′, nach 24 Stunden — 1°3′.
20. V. L.-A. 10^{-1}.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α sofort + 22′, nach 48 Stunden + 22′.

c) Übertragung des Serums eines passiv immunisierten Tieres auf ein anderes Tier derselben oder verschiedener Art.

Die passive Immunisierung war, abgesehen von dem wissenschaftlichen Interesse, das sie beansprucht, für uns von praktischer Bedeutung, da es durch sie in viel kürzerer Zeit gelingt ein aktives Serum zu erhalten als durch aktive Immunisierung. Das Bedürfnis nach solchem Serum veranlaßte mich zu dem Versuche, das Serum eines passiv immunisierten Tieres noch weiter zu übertragen, obgleich ein solcher Versuch nach den bisherigen serologischen Erfahrungen nicht viel Erfolg versprach. Der Versuch gelang aber überraschend gut. Es konnten fortlaufend 5 mal hintereinander durch Weiterübertragung des Immunserums im Körper eines nicht vorbehandelten Tieres die entsprechenden Reaktionskörper hervorgerufen werden.

Hund 13, 23,5 kg, nach Exstirpation des Pankreas.

29. IV. 1913. L.-A. 0,064, also geringer als normal, auf Traubenzucker wirkt das Serum nicht.

Es werden 25 ccm von dem passiv immunisierten Kaninchen 6 (s. o.) in die Ohrvene gespritzt.

3. V. 1913. L.-A. 10^{-16}.

6. V. 1913. L.-A. 10^{-17}, L.-I. 0,001.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α sofort + 22′, nach 24 Stunden — 2°.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lävulose, Toluol.
α sofort — 35′, nach 24 Stunden + 2°30′.

Kaninchen 7b, 2,3 kg.

14. V. 1913. Es werden 0,3 g des getrockneten Serums von Hund 13 in Wasser gelöst und in die Vene gespritzt.

15. V. 1913. L.-A. 10^{-15}.

2,5 ccm Serum, 2,5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
Nach 24 Stunden α — 2°.

Hund 15, 21 kg schwer.

15. V. 1813. Es werden 25 ccm des Serums von Kaninchen 7b in die Vene gespritzt.

16. V. 1913. L.-A. 10^{-15}.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker, Toluol.
α sofort + 22′, nach 24 Stunden — 50′.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lävulose, Toluol.
α sofort — 35′, nach 24 Stunden + 40′.

II. Die Antigenwirkung von Stärke, Maltose, Dextrose, Lävulose, Lactose und Galaktose.

Zum Vergleich mit der Wirkung des Rohrzuckers wurden einige vorläufige Versuche auch mit den anderen leicht zugängigen Kohlenhydraten angestellt. Das Ergebnis war, daß durch Stärke, Maltose und Dextrose nur die diastatische Wirkung des Serums mehr oder weniger gesteigert werden konnte; nach Injektion von Lävulose, Lactose und Galaktose enthielt das Blut neben der vermehrten Amylase auch Invertin, es wandelte Dextrose in Lävulose um und führte diese in das Disaccharid über.

a) Stärke.

Zu den Versuchen diente lösliche Stärke, die durch Aufkochen in 0,9%ige NaCl-Lösung aufgelöst wurde.

Kaninchen 8.

18. I. 1913. 10 ccm 10%ige Stärkelösung in die Ohrvene.
18. I. 1913. Vor der Injektion L.-A. 0,1. 19. I. 1913 L.-A. 0,064.

Kaninchen 7.

29. I. 1913. 10 ccm 10%ige Stärkelösung in die Ohrvene.
Vor der Injektion L.-A. 0,1.
Nach der Injektion nach 30 Minuten L.-A. 0,16; nach 4 Stunden L.-A. 0,10; nach 7 Stunden L.-A. 0,10; nach 24 Stunden L.-A. 0,04; nach 48 Stunden L.-A. 0,025; nach 6 Tagen 0,064.

Kaninchen 9.

24. und 25. I. 1913 je 10 ccm 10%ige Stärke, am 26. I. 1913 10 ccm 20%ige Stärke in die Vene.

L.-A.	vor	der	Injektion	.	.	.	0,064
„	1 Tag	nach	der	1.	Injektion	.	0,025
„	1 „	„	„	2.	„	.	0,064
„	3 Tage	„	„	3.	„	.	0,064
„	5 „	„	„	8.	„	.	0,064
„	9 „	„	„	3.	„	.	0,040
„	14 „	„	„	3.	„	.	0,064

Hund.

4. II. 1913. 3 g Stärke in 30 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung. Nach 3 Minuten Erbrechen, Seitenlage, nach 10 Minuten Stuhlabgang. Der

Hund erholt sich nach 20 Minuten. Die ganze Erscheinung erinnert an den anaphylaktischen Chok.

L.-A. vor der Injektion 0,04; 30 Minuten nach der Injektion 0,1; 24 Stunden nach der Injektion 0,04. Am 8., 18. und 26. II. 1913 0,04.

Es wurden nun noch am 3., 4. und 5. III. 1913 je 30 ccm einer 20%igen Stärkelösung subcutan eingespritzt.

L.-A. am 11. III. 1913 0,064, am 15. und 18. III. 1913 0,01, am 31. III. 1913 0,04.

Diese Stärkeinjektionen bewirkten also keine oder nur vorübergehend eine verhältnismäßig geringe Steigerung der Diastase des Blutserums. Es ist aber zu beachten, daß diese Versuche sich mit den früher mitgeteilten durchaus nicht auf eine Linie stellen lassen. Denn die eingespritzten Mengen von Stärke sind nur klein. Größere konnten nicht angewendet werden, wenn man intravenös injizieren wollte, da die Tiere nach Injektion von Stärkelösung leicht Krämpfe und Atemnot bekommen und bei etwas größeren Mengen zugrunde gehen.

Erwähnt sei, daß nach den Angaben von E. Abderhalden, C. Brahm und Rathsmann[1]) der Diastasegehalt des Blutplasmas nach parenteraler Zufuhr von Stärke eine Zunahme zeigte, und daß das Serum selbst nach Fütterung großer Mengen von Stärke auch den Rohrzucker — wenn auch schwächer als nach Darreichung von Rohrzucker — angreifen soll.

Die Maltasewirkung des Blutserums war beim Hunde nach der Stärkeinjektion nicht geändert, die anderen auf die Zucker wirkenden Fermente waren nicht nachweisbar.

Im Serum der Kaninchen, das normal keine Maltase enthielt, war diese bei Kaninchen 7 nach 24 Stunden und bis zum 6. Tage nach der Injektion noch nachweisbar, bei Kaninchen 9 fand sie sich 24 Stunden nach der ersten Injektion, verschwand unter dem Einfluß der wiederholten Injektion (negative Phase von Wright, für die sich auch in den Rohrzuckerversuchen Andeutung fand [?]), war am 5. und 9. Tage vorhanden und am 14. Tage verschwunden.

Alle diese Beobachtungen können nach meiner Meinung günstigenfalls als Hinweis auf eine mögliche Antigenwirkung

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**, 431, 1910; **71**, 369, 1911.

der Stärke, aber nicht als ein sicherer Beweis für eine solche betrachtet werden.

b) Maltose.

Bei Hunden gelang es bisher nicht, durch intravenöse Injektion von Maltose eine Änderung in der Einwirkung des Blutserums auf Maltose herbeizuführen, wohl aber bei Kaninchen. Dieses erwies sich für derartige Versuche insofern als sehr geeignet, als sein Blutserum für gewöhnlich Maltose überhaupt nicht spaltet. Spritzte man ihm 1 g Maltose, in 10 ccm 0,9%iger Chlornatriumlösung gelöst, in die Ohrvene, so war nach 24 bis 48 Stunden Maltose ausnahmslos im Blutserum nachweisbar. Im Verlauf einiger Tage verschwand die Maltosewirkung wieder. Kontrollversuche, in denen eine Kochsalzlösung eingespritzt wurde, hatten keinen Einfluß.

1. Zwei normalen Kaninchen (1 und 2) wurden durch Punktion der Ohrvene etwa je 12 ccm Blut entnommen. Das Blutserum war nach dem Zentrifugieren völlig klar. Von den vereinigten Sera wurden je 5 ccm mit 5 ccm einer 2,5%igen Maltose- 1%igen Fluornatriumlösung gemischt. 5 ccm wurden sofort 3fach verdünnt und enteiweißt. 5 andere Kubikzentimeter wurden für 72 Stunden in den Brutschrank (37°) gestellt und ebenso behandelt. Die Polarisation beider Flüssigkeiten zeigte keinen Unterschied, ebensowenig die Osazonprobe.

2. Versuch am Kaninchen 1. 13. XII. 1912 5^h. Intravenöse Injektion von 10 ccm 10%iger Maltose- 0,9%iger NaCl-Lösung.

14. XII. 1912 5^h Blutentnahme.

A. 1 ccm Serum, 9 ccm 2,2%ige Maltose:		B. 5 ccm Serum, 5 ccm 2,5%ige Maltose, 3fach verdünnt und enteiweißt:
14. XII. α + 2°45′	ohne weiteres polarisiert.	14. XII. α + 30′ Glucosazon (?).
15. XII. α + 2°38′		
16. XII. α + 2°35′		16. XII. α + 22′ Glucosazon fällt während des Erhitzens aus.

3. Versuch am Kaninchen 2. 16. XII. 1912 3^h. 10 ccm 10%ige Maltose- 0,9%ige NaCl-Lösung intravenös.

17. XII. 1912 4^h Blutentnahme.

A. 1 ccm Serum, 9 ccm 2,5%ige Maltose:	B. 5 ccm Serum, 5 ccm 2,5%ige Maltose, 3fach verdünnt und enteiweißt:
17. XII., 6^h + 3°5′	
18. XII., 12^h + 2°57′	18. XII. + 32′ kein Gucosazon.
	20. XII. + 22′ reichlich Glucosazon.

Am 20. und 21. XII. werden noch einmal je 20 ccm einer 20%igen Maltoselösung in die Vene gespritzt. Am 23. XII. wird das Tier aus der Carotis entblutet.

A. 1 ccm Serum, 9 ccm 2,2%ige Maltose:
sofort + 2°14′
nach 24 Std. + 2°13′
„ 48 „ + 2°10′.

B. 40 ccm Serum, 1 g Maltose, 0,2 g Fluornatrium, 3fach verdünnt und enteiweißt:
23. XII. 5h + 55′ Glucosazon (?).
10h + 53′ „
24. XII. 12h + 47′ Glucosazon
während des Erhitzens
24. XII. 5h + 47′ Glucosazon
25. XII. 12h + 47′.

4. Kontrollversuch. 27. XII. 1912 12h. Einem Kaninchen wurden 10 ccm einer 1%igen NaCl-Lösung in die Vene gespritzt.

28. 12. 1912. Blutentnahme: 18 ccm.

A. 1 ccm Serum, 9 ccm 2%ige Maltose:
28. XII. 2°15′
30. XII. 2°15′

B. 7 ccm Serum, 7 ccm 2%ige Maltose, 3fach verdünnt und enteiweißt:
28. XII. + 27′ Glucosazon (?).
30. XII. + 27 „

Die Diastase war in diesen Versuchen nicht vermehrt.

Hund, am 8. und 9. IV. 1913 je 30 g Maltose in 40 ccm Wasser gelöst in die Vene gespritzt.

L.-A. 30. IV. 1913 0,064; 19. V. 1913 0,004; 22. V. 1913 0,000 01; 24. V. 1913 0,04.

Keine Einwirkung auf Rohrzucker oder Lävulose.

Hier wurde also nach Einführung großer Mengen von Maltose nur die Diastasewirkung des Serums — und zwar sehr bedeutend — gesteigert. Auffallend ist der späte Eintritt der Wirkung.

Auch diese Versuche gestatten noch kein abschließendes Urteil über die Antigenwirkung der Maltose.

c) Traubenzucker.

Die Versuche mit Traubenzucker wurden von vornherein mit großen Mengen angestellt.

Hund 10, 20 kg, erhält am 18. II. 1913 40 g Traubenzucker in 40 ccm Wasser gelöst intravenös.

L.-A. 18. II. 1913 vor der Injektion 0,025.

L.-A. 26. II. 0,04; 2. III. 0,04; 5. III. 0,025, keine anderen Fermente.

7. III. 1913 noch einmal 40 g Traubenzucker in 40 ccm Wasser intravenös.

L.-A. 8. III. 0,1; 11. III. 0,064; 14. III. 0,001; 17. III. 0,01; 30. III. 0,04.

9. IV. und 10. IV. 1913 noch einmal je 50 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser intravenös.

L.-A. 14. IV. 0,01; 17. IV. 0,01; 19. IV. 0,001; 21. IV. 0,01, keine anderen Fermente.

Die Steigerung der Wirkung auf Stärke war vorübergehend und im Vergleich zum Rohrzuckerimmunserum nur gering; auf

Rohrzucker, Dextrose und Lävulose wirkende Fermente waren nicht nachweisbar.

d) Lävulose.

Lävulose wurde von den Tieren schlechter vertragen als Rohrzucker, Maltose und Dextrose. Ein 3,5 kg schweres Kaninchen, dem 10 ccm der 40%igen Lösung in die Vene gespritzt wurden, ging schnell unter Krämpfen zugrunde. Hunde waren widerstandsfähiger. Von 4 mit Lävulose behandelten Hunden reagierte aber nur der folgende stark mit Fermentbildung.

Hund, 10 kg.

5. IV. 1913 20 g Lävulose in 30 ccm Wasser gelöst in die Ohrvene. 6. IV. 1913 ebenso 10 g in 20 ccm Wasser.

L.-A. am 5. IV. vor der Injektion 0,025; am 9. IV. 0,04; keine anderen Fermente.

11. IV. 1913 L.-A. 10^{-7}.

3 ccm Serum, 3 ccm 5%ige Lävulose.

3 ccm mit 10 ccm Wasser, enteiweißt α — 17′, nach 24 Stunden + 41′, nur maltosazonähnliche Krystalle neben spärlichem Glucosazon.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Traubenzucker.

α sofort + 22′, nach 48 Stunden — 35′.

14. IV. L.-A. 10^{-11}.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker.

α sofort + 17′, nach 48 Stunden + 1°57′, kein Glucosazon, nur isomaltosazonähnliche Krystalle.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lävulose.

α sofort — 35′, nach 48 Stunden + 2°, kein Glucosazon, nur isomaltosazonähnliche Krystalle.

17. IV. L.-A. 10^{-13}.

5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lactose.

α sofort + 25′, nach 24 Stunden — 20′, Seliwanoffs Probe stark.

21. IV. L.-A. 10^{-6}.

25. IV. L.-A. 10^{-1}. Das Serum ist auf Rohr- und Milchzucker nicht mehr wirksam.

e) Galaktose.

Merkwürdigerweise wirkte auch die Galaktose als Antigen unter Bildung von Diastase, Invertin und Lävulose umwandelndes Ferment.

Kaninchen 6, 3,5 kg.

15. III. 1913 20 ccm, am 17. III. 10 ccm, am 20. III. 1913 5 ccm 40%ige Galaktaselösung in die Ohrvene.

14. III. L.-A. 0,04; 8. IV. L.-A 0,025; 9. IV. L.-A. 0,001; 18. IV. L.-A. 0,0001.

22. IV. 1913. L.-A 10^{-11}; 5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Galaktose.
α sofort + 31′, nach 24 Stunden + 1° 41′.

24. IV. 1913. L.-A. 10^{-11}; 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker.
α sofort + 24′, nach 2 Tagen — 20′.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%ige Lävulose.
α sofort — 35′, nach 2 Tagen + 30′.
29. IV. 1913. L.-A. 0,04, andere Fermente nicht nachweisbar.

f) Milchzucker.

Milchzucker erwies sich nicht so indifferent wie der Rohrzucker. 20 ccm einer 30%igen Lösung war für ein Kaninchen von 4 kg bei intravenöser Einspritzung tödlich. Der Milchzucker wurde deshalb im folgenden Versuche subcutan angewendet.

Kaninchen 16, 3,2 kg.

Am 21. und 22. VI. je 5 g Milchzucker in 20 ccm Wasser subcutan.
10. VII. L.-A. 10^{-4}. Rohrzucker nicht gespalten.

12. VII. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker.
α sofort + 26′, nach 24 Stunden — 1° 5′

14. VII. 5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Rohrzucker.
α sofort + 26′, nach 48 Stunden — 50′.
5 ccm Serum, 5 ccm 5%iger Milchzucker.
α sofort + 26′, nach 48 Stunden — 15′.

3 Wochen nach der subcutanen Einspritzung von Milchzucker hatte also das Blut die Fähigkeit, Rohrzucker und Milchzucker zu spalten und die Dextrose bzw. Galaktose in Lävulose (?) zu verwandeln. Das Kaninchen magerte sehr schnell ab und ging ein. Im folgenden Versuche am Hunde war nach der intravenösen Einspritzung von Milchzucker nur die Diastase vermehrt.

Hund, 12 kg.

31. III. 1913 10 g Milchzucker in 30 g Wasser intravenös; unmittelbar nach der Injektion Kollaps; bis zum nächsten Tage somnolent.

L.-A. 31. III. vor der Injektion 0,025; 11. IV. 1913 0,01; 15. IV. 0,001; 18. IV. 10^{-10}; 22. IV. 10^{-9}; 25. IV. 10^{-9}; 28. IV. 10^{-9}; 31. IV. 0,04.

Wenn wir die in diesem Abschnitt mitgeteilten Versuche im Zusammenhang betrachten, so sehen wir, daß bei der Antigenwirkung der Kohlenhydrate das Verhalten der Diastase offenbar von anderen Einflüssen abhängt, als das Verhalten des Invertins und der anderen auf die Zucker einwirkenden Enzyme, in Übereinstimmung mit anderen obenerwähnten Be-

obachtungen. Denn die Diastase des Blutserums nimmt zu nach der parenteralen Injektion von d-Glucose, d-Fructose, d-Galaktose und derjenigen Kohlenhydrate, die bei der fermentativen Spaltung diese Zucker liefern, also Stärke, Maltose, Rohrzucker und Milchzucker.

Nach der parenteralen Zufuhr von Glucose enthält aber das Blut kein Invertin. Dieses erscheint nach der parenteralen Einfuhr von Lävulose und Galaktose und der beiden Disaccharide — Rohrzucker und Milchzucker —, aus denen sie durch Spaltung im Tierkörper entstehen können. Unter Berücksichtigung der letzteren Tatsache müssen wir es als wahrscheinlich annehmen, daß die erste Phase bei der „Immunisierung" mit Rohrzucker und Milchzucker die Spaltung beider Zucker ist. Vermutlich erfolgt diese in der Schleimhaut des Dünndarms, wo auch bei der Resorption dieser Zucker die Spaltung stattfindet.

Berücksichtigen wir weiter die chemische Verschiedenheit von Lävulose und Galaktose, so ist es nicht wahrscheinlich, daß diese beiden Zucker den immunisatorischen Effekt unmittelbar auslösen, es ist vielmehr wahrscheinlich, daß beide in ein neues, und zwar beide in dasselbe Produkt übergeführt werden, und daß dieses erst die „Immunisierung" einleitet.

Diese besteht, soweit die bisherigen Versuche reichen, erstens in der Mobilisierung zweier Enzyme, von denen das eine den Rohrzucker, das andere den Milchzucker spaltet, weiter in dem Hervorrufen eines Enzyms, das Traubenzucker und Galaktose in Lävulose überführt, drittens in dem Hervorrufen eines Enzyms, das die Lävulose, wie es scheint unter Mitwirkung von anderen Bestandteilen des Blutserums, in ein Disaccharid verwandelt. Der Immunisationsvorgang ist also ein viel verwickelterer Prozeß, als man bisher anzunehmen geneigt ist. Es handelt sich bei ihm nicht nur um die Bildung eines „Schutz- oder Abwehrfermentes". Denn die Reaktion, die auf die Zufuhr des immunisierenden Stoffes erfolgt, richtet sich nicht nur gegen diesen allein, sondern auch gegen andere von ihm verschiedene, wenn auch bis zu einem gewissen Grade verwandte Stoffe: Nach Immunisierung mit Rohrzucker zerlegt das Blutserum auch Milchzucker, und nach Immunisierung mit Lävulose spaltet dss Blutserum Rohrzucker und Milchzucker.

Weiter erzeugt das Antigen auch Enzyme, welche die Spaltungsprodukte eines anderen Körpers als die des Antigens angreifen. Denn das Rohrzuckerimmunserum wirkt auch auf Galaktose. Ferner entsteht bei der Immunisierung mit Rohrzucker, Milchzucker, Lävulose und Galaktose Amylase, die weder auf die eingespritzten Disaccharide noch ihre Spaltungsprodukte reagiert, sondern erst auf ein Produkt — Glykogen —, das sich sekundär aus den Spaltungsprodukten bilden kann.

Die Immunisation ist also in gewissem Sinne eine „Allgemeinreaktion". Spezifisch ist sie aber insofern, als diese Reaktion nur von einer bestimmten Gruppe von Körpern ausgelöst werden kann und sich die wesentliche Wirkung des betreffenden Immunserums vermutlich auch immer nur auf eine bestimmte Gruppe von chemischen, mit dem Antigen verwandten Stoffen erstreckt.

Weitere Versuche sind im Gange, um die in vorstehender Arbeit mitgeteilten Versuche zu ergänzen und die in ihr entwickelten Anschauungen weiter auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Beitrag zur volumetrischen Harnstoffbestimmung.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. Dr. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 22. Oktober 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Es ist allgemein bekannt, daß die Knop-Hüfnersche Methode der Harnstoffbestimmung sowie die bisher vorgeschlagenen Modifikationen wohl für klinische Zwecke, nicht aber für exakte Stoffwechsel-Untersuchungen angewendet werden kann, da die Zersetzung des Harnstoffs durch Bromlauge — wenigstens unter den bisher üblichen Versuchsbedingungen — nicht ganz quantitativ ist.

Da nun eine wirklich brauchbare und auch bei exakten Untersuchungen anwendbare volumetrische Harnstoffbestimmung gegenüber anderen Methoden, z. B. von Pflüger-Bleibtreu[1]) und Mörner-Sjöqvist-Folin[2]), die auf der Überführung des Harnstoffs in Ammoniak beruhen, durch Einfachheit und kurzer Dauer der Bestimmung zweifellos bedeutende Vorteile bieten würde, unternahm ich es, nochmals die Verhältnisse bei der Reaktion zwischen Harnstoff und Bromlauge zu untersuchen, in der Hoffnung, eventuell Bedingungen zu ermitteln, unter denen sie quantitativ verläuft.

Aus den schon früher zu demselben Zwecke von mehreren Forschern angestellten Untersuchungen, die aber, wie erwähnt, keine genügende Verbesserung der Hüfnerschen Methode zur Folge hatten, ist nur zu entnehmen, daß bei der Reaktion zwischen Harnstoff und Bromlauge die Konzentration der Harn-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **44**, 78.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**, 504; **37**, 548.

stofflösung, ferner die Hypobromidkonzentration in der Bromlauge, namentlich aber deren Gehalt an freiem Alkali, und schließlich noch die Anwesenheit von fremden, offenbar zum Teil katalytisch wirkenden Stoffen — als reaktionsbegünstigend wurden Traubenzucker, Rohrzucker, Alkohol, Acetessigester und Kaliumcyanat genannt — von Bedeutung ist.

In meiner ersten Versuchsreihe brachte ich die gewöhnliche Knopsche Lauge (100 g NaOH, 25 ccm Br, 250 ccm H_2O), und zwar je 20 ccm auf Harnstofflösungen verschiedener Konzentration (je 25 ccm) zur Einwirkung und erhielt aus je 10 untereinander gut übereinstimmenden Zahlen folgende Mittelwerte für den Verlust an Stickstoff, der eben durch die unvollkommene Spaltung des Harnstoffs entsteht.

4%ige	Harnstofflösung:	6,1%	N-Verlust
3%ige	"	4,5%	"
2%ige	"	8,4%	"
1%ige	"	8,8%	"

In der nächsten Versuchsreihe verwendete ich die seinerzeit von mir zur volumetrischen Harnsäurebestimmung angegebene Lauge (100 g NaOH, 25 g Br, 250 ccm Wasser), die, wie ersichtlich, nur ungefähr ein Drittel der Brommenge der Knopschen Lauge enthält und sich infolgedessen bedeutend billiger stellt, und brachte diese wieder auf Harnstofflösungen verschiedener Konzentration zur Einwirkung, wobei folgende Werte für den Stickstoffverlust erhalten wurden:

4%ige	Harnstofflösung:	4,3%	N-Verlust
3%ige	"	3,4%	"
2%ige	"	5,5%	"
1%ige	"	10,0%	"

Wie sich aus dem Vergleich der beiden Versuchsreihen ergibt, werden bei Verwendung der bromärmeren Lauge im Gegensatz zu anderen Angaben[1]), denen zufolge bei größerer Hypobromitkonzentration der Bromlauge die Reaktion vollständiger verläuft, bessere Resultate erhalten als bei Anwendung der Knopschen Lauge.

[1]) Siehe: Analyse des Harns. 11. Aufl. von Neubauer-Huppert Lehrb. 1913, S. 553.

Das Optimum, das aber selbstverständlich den Anforderungen, die an eine exakte Methode gestellt werden müssen, keineswegs entspricht, wird in diesem Falle dann erreicht, wenn 2,5 ccm einer 3%igen Harnstofflösung zur Zersetzung gelangen.

Bei der nächsten Versuchsreihe verwendete ich eine alkalireichere Lauge von folgender Zusammensetzung: 150 g NaOH, 25 g Br, 250 ccm H_2O und brachte diese wieder mit Harnstofflösungen verschiedener Konzentration zur Wechselwirkung, wobei sich folgende Mittelwerte ergaben:

4%ige	Harnstofflösung:	1,3%	N-Verlust
3%ige	„	1,4%	„
2%ige	„	0,2%	„
1%ige	„	3,5%	„

Die Erhöhung der Alkalikonzentration hat also einen ganz bedeutenden Einfluß, so zwar, daß bei Verwendung der alkalireichen Lauge von dem angegebenen Mischungsverhältnis und einer 2%igen Harnstofflösung die Fehler die zulässige Grenze kaum überschreiten.

Es war noch schließlich der Gedanke naheliegend, die Reaktion durch Zusatz einer oxydierenden Substanz, die also gewissermaßen als Sauerstoffübertrager wirken sollte, zu begünstigen.

Von mehreren daraufhin untersuchten Stoffen erwies sich das Ferricyankalium als besonders brauchbar, und zwar wurden merkwürdigerweise in diesem Falle bei Anwendung der alkaliärmeren Lauge bessere Resultate erhalten als bei Verwendung der konzentrierteren.

Es ergaben sich bei Verwendung der von mir seinerzeit angegebenen Lauge und Zusatz von je 5 ccm einer 20%igen Ferricyankaliumlösung folgende Mittelwerte für den N-Verlust:

4%ige	Harnstofflösung:	0,4%	N-Verlust
3%ige	„	0,08%	„
2%ige	„	0,2%	„
1%ige	„	3,4%	„

In Zusammenfassung der mitgeteilten Resultate läßt sich also folgendes sagen:

Die Zersetzung des Harnstoffs durch Bromlauge nach der Gleichung:

$$CO(NH_2)_2 + 3\,NaBr \longrightarrow CO_2 + N_2 + 3\,NaBr + 2\,H_2O$$

verläuft unter bestimmten Bedingungen quantitativ, d. h. zum mindesten für die Anforderungen der praktischen, wenn auch exakten Analyse genügend vollständig entweder bei Verwendung einer alkalireichen Bromlauge (150 g NaOH, 25 g Br, 250 ccm H_2O) und einer annähernd $2\,\%$igen Harnstofflösung, oder bei Verwendung der verdünnteren Lauge (100 g NaOH, 25 g Br, 250 ccm H_2O) und Zugabe von Ferricyankalium, wenn der Harnstoff in 2 bis $3\,\%$iger Lösung vorliegt. Nach den Ergebnissen der mitgeteilten Versuche ist das letztere Verfahren mehr zu empfehlen, und zwar nicht nur, weil es an und für sich bessere Resultate liefert, sondern auch deshalb, weil in diesem Falle die Einhaltung ganz bestimmter Konzentrationen der Harnstofflösung resp. bestimmter Harnstoffmengen nicht von so großer Wichtigkeit ist wie bei der ersteren Methode.

Es wäre somit die volumetrische N-Bestimmung in Harnstofflösungen am besten derart durchzuführen, daß man von 2 oder $3\,\%$igen Harnstofflösungen 2,5 ccm, bei verdünnteren Lösungen 5 ccm verwendet, dann 5 ccm einer $20\,\%$igen Ferricyankaliumlösung zusetzt und die Zersetzung mit 20 ccm einer Bromlauge vornimmt, die aus 150 g NaOH, 25 g Br und 250 ccm Wasser hergestellt ist.

Diese Methode kann auch bei exakten Stoffwechseluntersuchungen mit Vorteil angewendet werden und ist, wie vergleichende Versuche ergeben haben, den Verfahren, die auf der Umwandlung des Harnstoffs in Ammonsalze beruhen, an Genauigkeit fast gleichwertig, bezüglich der Dauer der Bestimmung aber jedenfalls überlegen. Es ist selbstverständlich, daß bei exakten Stoffwechseluntersuchungen auch in diesem Falle der Harn von störenden Substanzen befreit werden muß, was am besten nach den bewährten Methoden von Pflüger-Bleibtreu oder Mörner-Sjöqvist-Folin geschieht.

Da, wie schon Pflüger, Schenk und Schleich bemerkten, auch die Form des Zersetzungsgefäßes nicht völlig belanglos ist, sei zum Schluß noch bemerkt, daß sämtliche für

die vorliegende Arbeit ausgeführten Bestimmungen mit dem neuen, verbesserten Azotometer nach Jolles-Göckel vorgenommen wurden, das sich übrigens auch bei anderen gasanalytischen Arbeiten, so als Ersatz des Nitrometers, bei Kohlensäurebestimmungen u. dgl. als sehr gut brauchbar erwiesen hat.

Der Apparat besteht aus dem Mischgefäß *A*, einem Verbindungsschlauch mit *T*-Rohr und Hahn *a* und dem Meßapparat, bestehend aus dem Meßrohr *M*, Niveaurohr *N* und Ablaßhahn *c*. Der Deckel *b* auf dem Niveaurohr dient ausschließlich zum Fernhalten des Staubes und ist bei Vornahme der Messung abzunehmen.

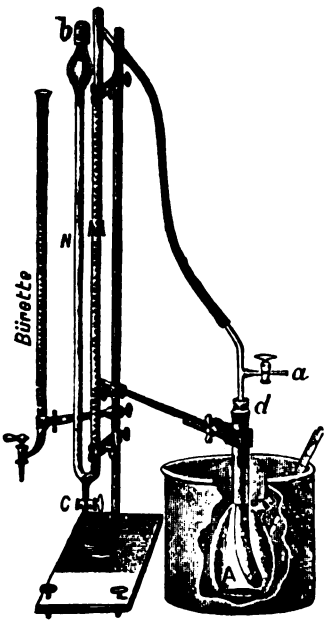


Fig. 1.

Das Entwicklungsgefäß wird mit der zu untersuchenden Flüssigkeit beschickt, in den inneren Raum die Bromlauge eingeführt und das Meßrohr mit Wasser bis zur 0-Marke aufgefüllt. Sodann wird Meßrohr und Entwicklungsgefäß durch Einsetzen des Stopfens *d* verbunden und durch kurzes Öffnen des Hahnes *a* der hierbei entstandene Überdruck ausgeglichen. *a* wird nun geschlossen und durch Neigen des Entwicklungsgefäßes die Bromlauge in den Außenraum fließen gelassen, worauf die Reaktion eintritt und sich Stickstoff entwickelt; es fällt das Wasser im Meßrohr und steigt im Niveaurohr. Es ist unvorteilhaft, wenn sich hierbei ein zu großer Überdruck im Apparate ausbildet, weshalb nach Maßgabe der Gasentwicklung vermittels des Ablaßhahnes *c* das Wasser abgelassen wird, bis es im Niveaurohr 2 ccm höher steht als im Meßrohr.

Wenn die Reaktion beendet ist und keine weitere Vermehrung des Gases stattfindet, wartet man noch etwa 2 Minuten und läßt aus dem Niveaurohr das Wasser genau bis auf das gleiche Niveau wie im Meßrohr ab.

Durch ein an einer Klammer verschiebbares Lineal wird diese Einstellung sehr erleichtert.

Bedingung zur Erzielung genauer Resultate ist, daß die Temperatur im Entwicklungsgefäß vor und nach der Bestimmung die gleiche ist. Hierzu ist es vorteilhaft, das Entwicklungsgefäß durch Eintauchen in Wasser auf konstanter Temperatur zu halten, bzw. wenn die Temperatur gestiegen sein sollte, dies durch Zusatz von kaltem Wasser oder Eisstückchen zum Kühlwasser im Kühlgefäß auszugleichen. Man tut gut daran, beim Umschütteln das Entwicklungsgefäß nicht in seinem breiten Teile in die Hand zu nehmen, sondern den Hals mittels eines Tuches anzufassen.

Über den Nachweis der Saccharose im Harn.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. Dr. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 22. Oktober 1913.)

In der Literatur finden sich nur spärliche Angaben über das mögliche Vorkommen und den Nachweis von Saccharose im Harn. Der Umstand, daß ich im letzten Jahre Gelegenheit hatte, in 3 Fällen Saccharose im Harn einwandfrei nachzuweisen, veranlaßt mich, die hierbei gemachten Erfahrungen mitzuteilen.

Der erste Fall (I) betrifft ein 2jähriges Kind mit heftigem Darmkatarrh, dem mit Rohrzucker stark gesüßter Tee verabreicht wurde.

Der zweite Fall (II) betrifft eine hysterische Frau, bei der seit etwa 3 Jahren eine geringgradige Glucosurie sichergestellt wurde und die, um ihren Zustand in einem ungünstigeren Lichte erscheinen zu lassen, zum Harne Saccharose zugesetzt hat.

Bei dem dritten Fall (III) handelt es sich um einen Beamten aus Kroatien, der zum Zwecke der Erlangung eines Urlaubes dem Kassenarzte seinen vorher mit Rohrzucker versetzten Harn übergab, um als „Diabetiker" diagnostiziert zu werden.

Die einschlägigen Harnproben wurden unserem Institute zur Untersuchung überwiesen.

Die Trommersche und Nylandersche Probe fielen bei Fall I vollständig negativ aus (keine Spur einer Reduktion), bei Fall II aber beide positiv, was hier durch die Anwesenheit geringer Dextrosemengen bedingt ist; bei Fall III zeigte sich nur eine minimale, auf Harnsäure zurückzuführende Reduktion bei Ausführung der Trommerschen Probe.

Die Phenylhydrazinprobe dagegen war bei allen drei Fällen positiv. Zur Ausführung wurden je 10 ccm eiweißfreier Harn mit 0,5 g salzsaurem Phenylhydrazin und 1 g Natriumacetat vorschriftsmäßig behandelt und hierauf ca. 1 Stunde im kochenden Wasserbade erhitzt.

Das positive Ergebnis bei I und III ist darauf zurückzuführen, daß durch die Säure die Saccharose zum Teil invertiert wird.

Vergleichende Versuche, die mit reinen Saccharoselösungen durchgeführt wurden, ergaben folgendes:

Phenylhydrazinproben, bei denen Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat oder Phenylhydrazinbase und konzentrierte Essigsäure verwendet werden, bedingen auch bei geringen Saccharosemengen eine deutliche Hydrolyse und liefern daher ein positives Resultat.

Hieraus folgt, daß die alleinige qualitative Prüfung auf Dextrose mittels der sehr empfindlichen Phenylhydrazinprobe in gewissen Fällen zu Irrtümern Anlaß geben kann.

Die quantitative Zuckerbestimmung durch Polarisation oder Reduktion wird natürlich die Anwesenheit von Saccharose vermuten lassen, da das Mißverhältnis zwischen dem Ausfall der Phenylhydrazinprobe und der starken Drehung der Saccharose bzw. der minimalen oder fehlenden Reduktion sofort auffällt.

Zur Sicherstellung der Anwesenheit von Saccharose im Harn empfiehlt sich die Durchführung der von mir in dieser Zeitschrift (Bd. 34, S. 56, 1912) beschriebenen Alkalimethode.

Dieselbe liefert ferner die sofortige Orientierung, ob im untersuchten Fall neben Saccharose auch andere Zuckerarten vorhanden sind.

Es wurde folgendermaßen verfahren:

Der eiweißfreie Harn wurde im Verhältnisse 1 : 1 verdünnt, 100 ccm dieses Harnes wurden mit 2,6 ccm einer $4^n/_1$-Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäße im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen, hierauf abgekühlt und mit Essigsäure schwach angesäuert, 50 ccm wurden nun mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1 : 10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Zum Vergleiche wurde das Drehungsvermögen des Harnes vor und nach der Inversion bestimmt, und zwar wie folgt:

100 ccm Harn wurden mit 10 ccm konzentrierter HCl (D. 1,1) versetzt und durch 10 Minuten bei 67° erhalten, dann abgekühlt, gegen Lackmuspapier neutralisiert und hierauf auf 200 ccm aufgefüllt. Hiervon wurden 50 ccm entnommen, mit 5 ccm Bleiacetat gefällt, filtriert und polarisiert.

Das Polarisationsergebnis ist um 10% zu erhöhen und dann zu verdoppeln. Wie aus nachstehender Tabelle hervorgeht, resultiert nur im Fall II bei Anwendung der Alkalimethode eine Veränderung der Drehung, die auf die tatsächlich vorhandene Dextrose zurückzuführen ist.

Drehung	I		II		III	
	Grade Ventzke	Zuckergehalt	Grade Ventzke	Zuckergehalt	Grade Ventzke	Zuckergehalt
Zu Beginn	17,1		14,5		1,4	
Nach der Behandlung mit Alkali	17,2	0% Dextrose, 4,75% Saccharose	12,2	2,3°V.=0,8% Dextrose	1,4	0% Dextrose, 0,39% Saccharose
Nach der Inversion	— 5,9	4,91% Sacoharose	— 1,8	3,4% Saccharose, 0,8% Dextrose	— 0,6	0,5% Saccharose

In Fall I und III ist das ursprüngliche Drehungsvermögen des Harnes (s. erste Horizontalspalte) nach der Behandlung mit Alkali gleich geblieben, was die Abwesenheit von Dextrose beweist.

Die durch die Alkalimethode für Saccharose gefundenen Werte stimmen mit den polarimetrischen Resultaten nach der Inversion gut überein. Die Alkalimethode erlaubt also in einfacher und daher verläßlicher Weise, einen Gehalt des Harnes an Saccharose auch neben Dextrose sofort quantitativ festzustellen.

Studien in der Chlorophyllgruppe. XIX.

Von

L. Marchlewski.

Über die Inkonstanz des Chlorophyllquotienten in Blättern und ihre biologische Bedeutung.

Von

H. Borowska und L. Marchlewski.

(Eingegangen am 24. Oktober 1913.)

Im vorigen Jahre hat der eine von uns[1]) mit C. A. Jacobson Methoden beschrieben, die zur Bestimmung des Verhältnisses des Neo- zum Allochlorophyll dienen. Eine derselben beruht auf der Tatsache, daß die Spektren der beiden Chlorophyllane sehr verschieden sind. Diese Verschiedenheit tritt besonders markant im stärker gebrochenen Teil des Spektrums zum Vorschein. Während nämlich das Allochlorophyllan ein sehr starkes Band um die Wellenlänge $\lambda = 440{,}35\ \mu\mu$ verursacht, ist das Neochlorophyllan für diesen Teil des Spektrums völlig durchsichtig. Vergleicht man daher Gemische von Chlorophyllanen, so werden ihre Spektren das oben charakterisierte Band um so stärker auch in dünnen Schichten zeigen, je mehr sie Allochlorophyllan enthalten. Die Intensität dieses Bandes muß also als Maß der Menge des vorhandenen Allochlorophyllans betrachtet werden. Da die okulare Beobachtung in diesem Teile des Spektrums nicht leicht ist und die Methode ihrem Prinzipe nach eine Vergleichsmethode ist, so ist es vorteilhaft, das untersuchte Spektrum photographisch zu fixieren und dann mit einer ad hoc hergestellten Skala zu vergleichen. Letztere besteht aus einer Reihe von Aufnahmen der Spektren künstlicher Gemische der beiden Chlorophyllane.

Was die Herstellung der zu studierenden Chlorophyllanlösungen anbelangt, so wurde nach zwei verschiedenen Me-

[1]) Diese Zeitschr. **39**, 174, 1912; **40**, 296, 1912.

thoden verfahren. Die erste bestand darin, daß die getrockneten und pulverisierten Blätter mit dem gleichen Gewicht[1]) 95%igen siedenden Alkohols behandelt, $^1/_2$ Stunde lang gemischt und dann bei einem Druck von bis 300 Atmosphären gepreßt wurden. Das Präparat wurde sodann filtriert und mit 10%iger Oxalsäure versetzt (1 Teil Säure zu 15 Teilen Farbstofflösung). Die Lösung stand über Nacht, und am nächsten Tage wurde das gebildete Chlorophyllan abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und schließlich nach der Methode, die E. Schunck zur Reinigung des Phylloxanthins anwandte, gereinigt. Diese Methode der Herstellung der Chlorophyllane für die hier behandelten Zwecke haben wir im Laufe des letzten Jahres mehreren kritischen Untersuchungen unterworfen. Zunächst konnten wir feststellen, daß die nachträgliche „Umlösung" nach Schunck unterbleiben kann. Sie wurde früher hauptsächlich nur aus dem Grunde befürwortet, daß das Rohchlorophyllan in der Regel etwas der gelben Chlorophyllbegleiter eingeschlossen enthält, die durch bloßes Waschen mit Alkohol nicht entfernt werden können. Da aber, wie sich später zeigte, diese Spuren der gelben Farbstoffe bei der notwendigerweise einzuhaltenden sehr geringen Chlorophyllankonzentration auf das Spektrum keinen Einfluß haben, und für die Methode der absolute Wert der Konzentration nebensächlich ist, so stören diese etwa vorhandenen Spuren gelber Farbstoffe durchaus nicht.

Diese Erkenntnis erlaubt demnach die Methode noch viel einfacher zu gestalten; es genügt, die erhaltene Chlorophyllösung anzusäuern, die abgeschiedenen Chlorophyllane nach einiger Zeit abzufiltrieren, mit einer kleinen Menge Alkohol zu waschen und dann zu trocknen. Falls zum Ansäuern Oxalsäure angewandt wurde, so enthält das Produkt eine größere Menge Calciumoxalat, das jedoch nicht störend wirkt, nur wird man dann natürlich das Präparat nicht wägen wollen, sondern man bereitet sich eine Lösung von annähernd derselben Farbintensität, die eine Lösung von 0,4 g Chlorophyllan im Liter Chloroform zeigt, verdünnt dann mit der 10fachen Chloroformmenge und schreitet zum Photographieren.

---

[1]) In der Abhandlung XIV dieser Zeitschr. **89**, 177 wurde durch ein Versehen „Volumen" angegeben.

Das auf diese Art ermittelte Verhältnis des Neo- zum Allochlorophyll wird natürlich nur dann dem ursprünglichen, in den Blättern obwaltenden Verhältnis entsprechen, wenn die geschilderte Extraktionsmethode einwandfrei ist, d. h. wenn sie das gleichmäßige Herauslösen gestattet. Diese Frage konnte auf zweierlei verschiedenen Wegen ermittelt werden. Zunächst konnte man erwarten, daß das auf photographischem Wege ermittelte Verhältnis des Neo- zum Allochlorophyll, das ich in Zukunft zur Vereinfachung als Chlorophyllquotient bezeichnen werde, von der Menge des auf dasselbe Blätterquantum einwirkenden Alkohols abhängt. Dies ist, wie unsere Versuche ermittelt haben, nicht der Fall. Die einschlägigen Studien wurden an Brennesselblättern und Ahornblättern ausgeführt. Auf je 200 g des getrockneten und gepulverten Materials kamen in einer Anzahl von Versuchsreihen 200 ccm, 400 ccm und 600 ccm siedenden Alkohols zur Anwendung. Jedesmal wurde das Gemisch nach $^1/_2$stündigem Rühren bei 300 Atmosphären abgepreßt und die filtrierte Lösung weiter wie oben behandelt. Die schließlich erzielten Photogramme erwiesen sich als absolut identisch. Der Chlorophyllquotient der Brennesselblätter, die im Jahre 1912 im Spätsommer gepflückt waren, betrug 2,33, während er für Ahornblätter 2,12 lautete. Es zeigte sich also, daß die Menge des angewandten Alkohols auf den Chlorophyllquotienten, bei Einhaltung der oben beschriebenen Bedingungen, ohne Einfluß ist, beide Chlorophyllkomponenten lösen sich gleichmäßig aus dem Pflanzenmaterial heraus.

Die zweite Kontrolle der angegebenen Methode konnte auf folgendem Wege erzielt werden. Wie bereits der eine von uns mit C. A. Jacobson hervorhob, kann das Prinzip der angegebenen Methode auch in dem Falle zur Bestimmung des Chlorophyllquotienten benutzt werden, wenn man nur ganz wenig Material zur Verfügung hat, z. B. in einem einzigen Blatte. Zu dem Ende wird das Blatt durch siedenden Alkohol vollständig entfärbt, beide Chlorophylle also quantitativ in Lösung gebracht, sodann der Auszug angesäuert, die Säure durch $CaCO_3$ abgestumpft und abdestilliert, der Rückstand wird endlich mit Chloroform ausgezogen, worin sich die Chlorophyllane spielend leicht lösen, und die Chloroformlösung nach entsprechender Verdünnung spektrographisch untersucht. In der Regel

stören die gelben Chlorophyllbegleiter dabei nicht, und eine wirklich vorhandene Störung kann leicht entdeckt werden. Diese Methode nun, der man nicht den Vorwurf machen kann, die beiden Chlorophylle wären nicht gleichmäßig dem Material entzogen, da eben beide vollständig in die alkoholische Lösung übergingen, gab, auf die obigen zwei Fälle angewandt, nahezu dasselbe Resultat, nämlich für Brennesselblätter 2,22 und Ahornblätter 2,12.

Zusammenfassend darf also behauptet werden, daß die erste Methode von Marchlewski und Jacobson, die von Willstätter[1]) abfällig kritisiert wurde, ebenso sicher ist wie die zweite derselben Autoren, die gegen alle Kritik resistent ist, und die Willstätter, wie es scheint, unbekannt geblieben war.

Die Anwendung der beschriebenen Methoden hat bekanntlich Jacobson und Marchlewski zu dem Resultate geführt, daß der Chlorophyllquotient keine Konstante vorstellt, sondern abhängig ist von verschiedenen Umständen, daß er von Pflanzenart zu Pflanzenart wechselt, und daß er auch nicht konstant für dieselbe Pflanzenart bleibt. Willstätter hingegen negiert dies, nach seiner Erfahrung ist der genannte Quotient konstant.

Es ist für mich eine große Genugtuung, daß das von mir und Jacobson gewonnene Ergebnis von anderer Seite, ganz unabhängig und vermittels anderer experimenteller Verfahren, bestätigt wurde. Dank der Liebenswürdigkeit des Verfassers bin ich in den Besitz einer Arbeit gelangt, die wohl geeignet erscheint, für die Forstwissenschaft epochemachend zu werden, ich meine die Arbeit von Max Wagner, Königl. Forstmeister in Jakobshagen, betitelt: „Die Sonnenenergie im Walde“[2]), aus der ich einige Sätze zitieren möchte, die sich auf das Problem des Chlorophyllquotienten beziehen.

„Die in der Praxis übliche Unterscheidung in Licht- und Schattenholzarten und die von ihr aufgestellte Reihenfolge .... ist allein darin begründet, daß die einzelnen Holzarten verschieden befähigt sind, Licht von verschiedenen Wellenlängen zu absorbieren. Allgemein absorbieren also die sog. Lichtholz-

[1]) Liebigs Annal. **390**, 269, 1912; vgl. auch Marchlewski, Antwort an Herrn R. Willstätter, ebenda **395**, 194, 1912.

[2]) Allgem. Forst- u. Jagdzeitung **1913**, Juni-, Juli-, September- und Oktoberheft.

arten weniger Licht, die Schattenholzarten aber mehr. Die Unterschiede sind oft ganz bedeutend. Wenn beispielsweise eine Eiche auf frischem lehmigen Sand die Strahlen von $\lambda = 640$ bis 684 $\mu\mu$ mit einer Differenz von 44 zwischen der längsten und kürzesten absorbierten Welle verbraucht, eine darunter stehende Buche aber die Strahlen von $\lambda = 638$ bis 693 $\mu\mu$, so leuchtet doch ein, daß der Buche zunächst die von der Eiche nicht absorbierten Strahlen von $\lambda = 638$ bis 640 $\mu\mu$ und von $\lambda = 684$ bis 693 $\mu\mu$ ganz zur Verfügung stehen, von $\lambda = 638$ bis 693 $\mu\mu$ aber noch die, welche durch die Bestands- und Kronenlücken spektral unverändert hindurchgegangen sind. Wenn auch der energetische Wert der verschiedenen assimilationsfähigen Strahlen nicht ganz gleich zu sein scheint, so kann man doch, wenn man die Beziehungen zwischen Absorption und Massenproduktion zum Ausdruck bringen will, die Breite des Absorptionsstreifens durch die Differenz zwischen der längsten und kürzesten absorbierten Welle angeben. Vergleicht man die so erhaltenen Werte verschiedener Holzarten miteinander, und die gleicher Holzarten auf verschiedenen Standorten, dann bekommt man Ergebnisse, die sich mit den Erfahrungen der Praxis vollständig decken. So betrug beispielsweise nach meinen Messungen die Breite der Absorptionsstreifen bei:

Quercus pedunculata . .	im	Maximum	55,	im	Minimum	34
„ sessiliflora . .	„	„	56,	„	„	45
Fagus silvatica	„	„	64,	„	„	39
Carpinus bet.	„	„	58,	„	„	47
Betula verrucosa . . .	„	„	50,	„	„	42
„ pubescens . . .	„	„	50,	„	„	40
Pinus sylvestris	„	„	66,	„	„	42
Picea excelsa	„	„	63,	„	„	48
Abies pectinata	„	„	77,	„	„	51.“

Nicht minder wichtig sind die folgenden Beobachtungen Max Wagners[1]):

„Bereits im Frühjahr 1906 hatte ich bei austreibenden Blättern festgestellt, daß auch hier der Absorptionsstreifen aus zwei aneinander anschließenden Teilen besteht, von denen der eine, der nach dem Ultrarot belegene, viel dunkler war als

[1]) l. c., S. 233.

der nach dem kurzwelligen Ende liegende. Die Grenzen zwischen beiden waren aber nicht konstant, änderten sich auch mit der weiteren Entwicklung der Blätter fast täglich, um bei ganz ausgebildeten meist bis auf einen schmalen Schatten nach dem Gelb hin zu verschwinden. Diesen Schatten schreibt Marchlewski der gelbgrünen Komponente zu. In der Zeit vom 2. bis 15. Mai 1906 habe ich an 18 verschiedenen Holzpflanzen 34 Einzeluntersuchungen auf die Trennung der Absorptionsgebiete ausgeführt und bei diesen die Grenzen zwischen $\lambda = 666$ bis 654 $\mu\mu$ liegend gefunden ...."

„So hatte beispielsweise ein Buxus semperv. am September 1912 eine Absorption von $\lambda = 695$ bis 644 $\mu\mu$, am 27. März 1913 dagegen nur von 691 bis 650 $\mu\mu$, wobei die Absorptionsstreifen bei $\lambda = 667$ $\mu\mu$ in einen dunklen und einen hellen Teil getrennt waren. Nach einem Spätfrost am 11. April 1913, dem mehrere ungewöhnlich warme Tage vorhergegangen waren, trat wieder eine auffällige Gelbfärbung ein, nach der die Absorption für die blaugrüne Komponente auf $\lambda = 673$ bis 667 $\mu\mu$ sank, während die für Gelbgrün unverändert bis $\lambda = 650$ $\mu\mu$ reichte. Es ist also nicht nur eine Veränderung in der Zusammensetzung des Blattgrüns, sondern auch eine solche in der Breite des Absorptionsstreifens eingetreten. Letztere habe ich übrigens im Winter sehr häufig bei den verschiedensten Nadelhölzern feststellen können."

Dies muß genügen, um die wichtigen Beobachtungen Wagners in bezug auf die Inkonstanz des Spektrums des Blattes annähernd wiederzugeben, und was die Erklärung dieser Tatsachen anbelangt, möchte ich wiederum Wagner sprechen lassen.

„Bald[1]) nachdem ich, gestützt auf über 1000 Absorptionsmessungen, die Tatsache veröffentlicht hatte, daß die Absorptionsfähigkeit nach Pflanzenart und Standort verschieden ist, wurde ich deshalb mit einer mir unverständlichen Schärfe angegriffen. Inzwischen haben sich zwar zahlreiche Forstleute von der Richtigkeit meiner Behauptung durch den Augenschein überzeugt, es fehlte mir aber immer noch die eigentliche Begründung. Diese ist nun auch gefunden. Marchlewski hat festgestellt, daß das Verhältnis des blaugrünen und gelbgrünen

[1]) l. c., S. 192.

Stoffes, aus welchen beiden das Blattgrün oder Chlorophyll besteht, kein konstantes ist ...."

Endlich mögen noch einige Sätze[1]) Wagners zitiert werden, die biologisch besonders wichtig sind: „Die Beziehungen, die zwischen dem Boden, der Lichtabsorption und der Massenproduktion bestehen, werden wir demnach kurz zum Ausdruck bringen können, indem wir sagen: Von der größeren oder geringeren Boden-(Standorts-)Güte hängt die Bildung der absoluten und relativen Menge an blaugrünem Blattfarbstoff — dem Neochlorophyll von Marchlewski, dem Chlorophyll a von Willstätter — ab, von dieser aber die Fähigkeit der Pflanzen, Licht verschiedener Wellenlänge zu absorbieren; in dem Maße aber, in dem das Licht absorbiert wird, findet auch die Produktion organischer Substanz statt. Ich halte deshalb meine Behauptung aufrecht, daß das spektroskopische Verfahren das sicherste und einfachste ist, die jeweilige Standortsgüte zu ermitteln und auch festzustellen, ob eine Nährstoffzufuhr nutzbar war."

Eine bessere Bestätigung meiner Forschungsergebnisse konnte ich wahrlich nicht erwarten. Der von mir aufgestellte Satz von der Inkonstanz des Chlorophyllquotienten ist vollauf bestätigt worden, und Wagners großes Verdienst ist, an Hand eines großen Beobachtungsmaterials die Frage zu beantworten, die ich ungelöst ließ: welche äußeren Bedingungen nötig sind, um den Quotienten in der einen oder anderen Richtung zu verschieben.

Es fragt sich nun, wie Willstätters unzutreffende Behauptung von der Konstanz des Chlorophyllquotienten entstehen konnte. Hier ist mit drei Möglichkeiten zu rechnen: 1. die von diesem Forscher benutzte Methode zur quantitativen Bestimmung des Neo- zum Allochlorophyll ist zu roh; 2. das benutzte Pflanzenmaterial war zufällig immer unter analogen äußeren Einflüssen produziert worden; 3. beide zuerst erwähnten Eventualitäten sind zutreffend. Es ist vorderhand nicht meine Absicht, diese Fragen entscheiden zu wollen; sicher ist es jedoch, daß das Ergebnis, das Willstätter mit Hilfe seiner Methode erhalten hat, wertlos ist.

[1]) l. c., S. 234.

Über die desamidierende Wirkung der Tyrosinase.

Von

R. Chodat und K. Schweizer.

(Eingegangen am 24. Oktober 1913.)

Wir haben vor kurzem in einer in den „Arch. des Sciences physiques et naturelles" erschienenen Arbeit eine Mitteilung[1]) publiziert, in der wir auf eine neue Eigenschaft des Oxydationsfermentes, der Tyrosinase, hinwiesen, nämlich die Eigenschaft, unter bestimmten Umständen von Aminosäuren sowohl Aldehyde wie auch NH_3 abspalten zu können[2]). Wir fanden, daß in schwach alkalischer Lösung (Kalkwasser) Aminoessigsäure nach kurzer Zeit unter Einwirkung von Tyrosinase die bekannte Schryversche Reaktion auf Formaldehyd liefert.

Zu diesem Nachweis werden nach Schryver zwei Lösungen hergestellt:

1. salzsaures Phenylhydrazin . . . 1%
2. Ferricyankalium 5%

Zu 10 ccm der auf die Gegenwart von Formaldehyd zu untersuchenden Lösung werden erstens 1 ccm der zweiten Lösung, dann 2 ccm der ersten und zuletzt 5 ccm konzentrierte

---

[1]) R. Chodat et K. Schweizer, La tyrosinase est aussi une desamidase. Arch. des Sciences physiques et naturelles, IVe période, **35**, 140, 1913.

[2]) Daß die gewöhnlichen Aminosäuren unter dem Einflusse von Wasserstoffsuperoxyd und Eisensalzen unter Abspaltung von Ammoniak in die um ein Kohlenstoffatom ärmeren Aldehyde übergehen, haben C. Neuberg und F. Blumenthal (Deutsche med. Wochenschr. **1901**, Nr. 1, und Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 238, 1902) zuerst angegeben.

Salzsäure zugefügt. Bei Gegenwart von Formaldehyd wird sofort oder bei schwacher Reaktion erst nach einiger Zeit die Mischung fuchsinrot oder doch rötlich (himbeerfarben).

Dies ist eine Modifikation der schon von Rimini publizierten Reaktion. Sie entsteht durch Kondensation von Formaldehyd mit Phenylhydrazin; dieses Kondensationsprodukt gibt bei der Oxydation eine schwache Base, welch letztere in Gegenwart von einem Überschuß einer starken Säure, bei Verdünnung, hydrolytische Dissoziation erfolgt. Schryver ersetzt in dieser Reaktion Ferrichlorid durch einen oxydierenden Körper, der, im Überschuß zugefügt, die Farbe nicht zerstört. Durch den Gebrauch von HCl an Stelle von H_2SO_4, um die Bildung eines gefärbten Salzes zu verwirklichen, ist nach Schryver die Riminische Reaktion zur quantitativen Bestimmung von Formaldehyd, und dies sogar bei einer $^1/_{10000}$-Verdünnung, zu verwerten[1]).

Bei unseren Untersuchungen hat sich diese Methode vollständig bewährt.

Es war nun die Frage, inwieweit bei der von R. Chodat[2]) publizierten p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion auf Aminosäuren, Peptide und Polypeptide die Tyrosinase als desamidierendes Agens funktioniere.

Es bildet sich nämlich bei der Einwirkung von Tyrosinase[3]) auf p-Kresol sowie auf etliche Phenole (z. B. Brenzcatechin) in Gegenwart von Aminosäuren und deren Kondensationsprodukten eine Reihe schöner Farbenreaktionen, die zur Untersuchung der Eiweißkörper und deren Zerfallsprodukte verwertet werden können.

Welche Rolle spielt die Aminosäure bei der Reaktion? Es lag nun nahe, nach der oben angeführten desamidierenden Eigenschaft der Tyrosinase auch hier eine ähnliche Wirkung zu erwarten. Um dies zu untersuchen, haben wir folgende Versuche angestellt:

---

[1]) S. B. Schryver, The photochemical formation of formaldehyd in green plants. Proc. Roy. Soc. **82**, 227, 1910.

[2]) R. Chodat, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Archives, IVe période, **33**, 70 bis 95 und 225 bis 348, 1912.

[3]) R. Chodat, Oxydationsfermente. In Abderhaldens Handb. d. biochem. Methoden **3**, I, 57, 1910.

Es werden von Glykokoll (1), Phenylglykokoll (2), Alanin (3), Tyrosin (4) äquimolekulare Lösungen zu (1) 0,75/250; (2) 1,5/250; (3) 0,98/250; (4) (gesättigte Lösung) hergestellt.

Von jeder werden nun nach dem Vorbild folgender Lösung

Glykokoll 0,75/250, Wasser . . 90 ccm
p-Kresol 1/250 . . . . . 30 „
Tyrosinase 0,05/20 . . . . . 20 „

entsprechende Versuche angestellt.

Nach 12 Stunden untersucht man auf Formaldehyd und Ammoniak. Zum NH_3-Nachweis wird Neßlersches Reagens oder Trilliat-Reagens[1]) angewandt.

Durch die Wirkung des Fermentes bildet sich, wie bekannt, eine intensive Färbung, so daß man die Untersuchung auf NH_3 und die Aldehyde nicht direkt ausführen kann. Es wurden somit die Lösungen destilliert und das Destillat in 10 ccm Wasser aufgefangen.

Die Versuche 1 bis 3 fielen positiv aus für NH_3 (starke Reaktion) — bei Gegenwart von Aminoessigsäure war die Reaktion mit dem Schryverschen Reagens schön rosa; die anderen gaben negative Resultate (orangegelbe Färbung). Bei diesen Untersuchungen lassen sich mit der üblichen Silbernitratmethode die Aldehyde nicht erkennen, da p-Kresol, das bei der Destillation übergeht, schon allein Silbernitrat reduziert.

Die vermutete Bildung von Benzaldehyd aus Phenylglykokoll fand ihre Bestätigung durch einen starken Geruch nach Bittermandelöl.

Bakterien wurden durch Zusatz von Toluol entfernt.

Bei Abwesenheit des Fermentes und unter sonst gleichen Bedingungen fielen die Versuche negativ aus. Folglich ist die Bildung von Aldehyden und NH_3 auf die Wirkung der Tyrosinase zurückzuführen.

Mit Phenylglykokoll und Pepton waren auch in Abwesenheit des Fermentes Spuren von NH_3 nachzuweisen, aber die Quantität des Ammoniaks war in diesem Falle so gering, daß dieselbe zur Fermentwirkung in keinem Vergleich steht.

---

[1]) Trilliat et Turchet, in Bertrand et Thomas, Guide pour les manipulations de chimie-biologique, S. 326. Paris 1910.

Es wurden auch Versuche angestellt, um zu sehen, inwieweit Pepton und Zucker (Glucose) diese Desamidierung beschleunigen oder verlangsamen.

Dem Versuch 1 wurde eine Peptonlösung zu 5/250 nach dem untenstehenden Typus zugesetzt:

5.	Glykokoll 30 ccm	Pepton 10 ccm	Tyrosinase 0,05	Wasser 20 ccm
6.	Phenylglykokoll 30 ccm	Pepton 10 ccm	Tyrosinase 0,05	Wasser 20 ccm

In beiden Fällen war keine Spur von Formaldehyd resp. Benzaldehyd zu finden. Mit Glykokoll war jedoch NH_3 sicher nachzuweisen.

Wir haben dann diese Wirkung des Peptons auch bei der p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion auf Aminosäuren erprobt:

7.	Pepton 10 ccm	Glykokoll 30 ccm	p-Kresol 10 ccm	Tyrosinase 0,05	Wasser 20 ccm

8. Dieselbe Mischung, aber ohne Pepton.

Ohne Pepton bekommt man die charakteristische Kresolazurreaktion; mit Pepton geht die Reaktion weniger weit: die Farbe bleibt rotbraun mit grüner Fluorescenz. Entsprechend ist nach der Destillation die Schryversche Reaktion ohne Pepton sehr stark, mit Pepton schwach.

Beide geben eine starke Reaktion mit Neßlers Reagens.

Diese Versuche wurden auch ohne Ferment angestellt. Das Resultat war aber negativ.

Bei Gegenwart von Phenylglykokoll, statt Glykokoll, beobachtet man ebenfalls Verlangsamung der Reaktionen.

9.	Glykokoll 0,20	Tyrosinase 0,05	Kalkwasser 20 ccm	Wasser 20 ccm	
10.	Glykokoll 0,20	Tyrosinase 0,05	Kalkwasser 20 ccm	Glucose 1,2	Wasser 20 ccm
11.	Glykokoll 0,20	Tyrosinase 0,00	Kalkwasser 0	Glucose 1,2	Wasser 20 ccm

Nach 17 Stunden: Ohne Glucose ist die Schryversche Reaktion am stärksten; 10. zeigt eine schwache Rötung, 11. keine Rötung.

Somit verlangsamt Glucose die Desamidierung. Nach 24 Stunden erhalten wir das gleiche Resultat, aber abgeschwächt.

Da in den grünen Organen der Pflanzen öfters Tyrosinase vorkommt (wir haben viele Pflanzen auf das Ferment untersucht und mehr oder weniger bei allen eine positive Reaktion gefunden), so könnte man die Gegenwart von Formaldehyd in den Blättern auf die Wirkung des oxydierenden Fermentes auf Glykokoll oder glykokollhaltige Abbauprodukte der Eiweißstoffe zurückführen. Es war deshalb angezeigt, zu prüfen, inwieweit das Chlorophyll diese Tyrosinasereaktion beeinflußt.

Wir haben zunächst die Bildung von Formaldehyd unter dem Einflusse des Lichtes bei einer großen Papaverart im Garten untersucht. Diese Pflanze enthält oxydierende Fermente.

Ein Blatt dieser Pflanze wurde vom Abend bis 2 Uhr des nächsten Tages mit einer schwachen Papierhülle umwickelt. Von dem besonnten wie von dem beschatteten Blatte wurden ähnliche Stücke (5 g) mit 40 ccm Wasser rasch im Mörser zerrieben und hierauf destilliert. Das Destillat wurde in 10 ccm Wasser aufgefangen. Das belichtete Blatt gab eine schwache, aber merkliche positive Reaktion (Rötung). Bei dem anderen fiel der Versuch negativ aus.

Der Versuch wurde wiederholt und ergab das gleiche Resultat.

Formaldehyd wurde in grünen Pflanzen schon von Polacci[1]), R. J. Harvey[2]), Gibson und A. W. Titherley gefunden. Ewart[3]) behauptet, daß in den bekannten Untersuchungen über die extracelluläre Bildung von Formaldehyd von Usher und Priestley Formaldehyd nicht als synthetisches Produkt der Einwirkung von Chlorophyllfarbstoff auf Kohlendioxyd im Lichte zu betrachten sei, sondern als ein Zersetzungsprodukt des Chlorophylls im Licht.

---

[1]) Arch. ital. Biolog. **35**, 151; **37**, 446.
[2]) Annals of Botany **32**, 117, 1908.
[3]) Proc. Roy. Soc. **80**, 30, 1908.

Schryver fand ebenfalls Formaldehyd im methylalkoholischen Extrakte des Chlorophylls. Er zieht daraus den Schluß, daß der Aldehyd im Chlorophyll mehr oder weniger lose gebunden sei.

Weiter fand er, daß Chlorophyllplatten im Dunkeln und im Lichte bei Abschluß von Kohlendioxyd nicht oder minimale Spuren von Formaldehyd liefern (l. c., S. 230), aber im Lichte und bei Gegenwart von Kohlensäure deutliche Reaktion auf Formaldehyd geben.

Bei unseren Versuchen ist die Bildung von HCOH nur im Lichte konstatiert worden. Man kann aber daraus nicht den sicheren Schluß ziehen, daß dieser Formaldehyd der Zersetzung von CO_2 und H_2O entstammt.

Es läßt sich jedoch nicht leugnen, daß die Formaldehydbildung sowohl in den Schryverschen Versuchen wie in den unserigen wahrscheinlich nach der bekannten Bayerschen Theorie entsteht. Aber es könnte immerhin der Fall sein, daß in tyrosinasehaltigen Pflanzen aus dem in den Zellen aufgespeicherten Glykokoll Formaldehyd entstünde.

Die folgenden Versuche zeigen, daß in der Desamidierung des Glykokolls das Chlorophyll eine Rolle spielen kann.

Grasblätter wurden unter Abschluß des Lichtes mittels Alkohol extrahiert. Der alkoholische Auszug wurde auf Kreidestücke gegossen und im Dunkeln verdunsten gelassen. Es entstehen so getrocknete, mit Chlorophyllfarbstoff imprägnierte Kreidestücke, die zu den Versuchen gebraucht wurden.

In Abwesenheit von CO_2 und im Lichte bildet Glykokoll merkliche Spuren von Formaldehyd[1]), wahrscheinlich durch die Gegenwart von H_2O_2. Die Gegenwart von Chlorophyll vermehrt kaum oder nicht die Menge des Formaldehyds.

Setzt man aber Tyrosinase hinzu, so merkt man in Gegenwart von Calciumcarbonat, daß sowohl im Lichte wie im Dunkeln Chlorophyll die Reaktion ungemein beschleunigt. Bei ähnlichen Versuchen wie Nr. 1 ist die Farbe nach der Schryverschen Reakten dunkel fuchsinrot, was einer vermehrten Formaldehydmenge entspricht.

---

[1]) Siehe C. Neuberg, diese Zeitschr. 17, 270, 1909.

Tyrosinase unter diesen Umständen, d. h. ohne Kalkwasser, gibt im Lichte eine sehr schwache Reaktion. Die Chlorophyllanwesenheit bedingt also eine rasche Desamidierung sowohl im Dunkeln wie im Lichte.

Da diese Bildung von Formaldehyd unter der Einwirkung von Tyrosinase und Chlorophyll auf Glykokoll ebenso stark im Dunkeln wie im Lichte stattfand, so lassen sich die Versuche über die Bildung des Formaldehyds in den Blättern eher als eine Synthese im Lichte deuten.

Wahrscheinlich wirkt das Chlorophyll bei unseren Versuchen, wie p-Kresol in früheren Versuchen, durch sein Reduktionsvermögen.

Bezüglich der Reaktionskinetik der Glucolyse.

Von

Aristides Kanitz.

(Eingegangen am 29. Oktober 1913.)

In dem soeben erschienenen 2. Band der 4. Auflage von Oppenheimers „Fermente“ S. 1036 schreibt R. O. Herzog im Anschluß der Besprechung der chemischen Dynamik der alkoholischen Gärung: „Es sei hier auch darauf hingewiesen, daß nach Vandeput[1]) die Glucolyse im Blut wie eine Reaktion I. Ordnung zu verlaufen scheint.“

In der zitierten Arbeit wird man aber vergebens nach irgendwelchen Erörterungen über die Reaktionskinetik der Glucolyse suchen, und erst recht die Angabe, daß der zeitliche Verlauf der Glucolyse durch die Geschwindigkeitsgleichung I. Ordnung dargstellt werden kann, vermissen. Vielmehr war ich es, der gelegentlich des Referierens[2]) der Arbeit Vandeputs zu dem von Herzog erwähnten Ergebnis gelangte. Da meine damalige Ausführung bis jetzt die einzige geblieben ist, die sich mit der Glucolyse vom reaktionskinetischen Standpunkt aus beschäftigt, und man unter Referaten derartiges nicht zu suchen pflegt, so will ich hier den diesbezüglichen Teil meines Referates wörtlich wiederholen; mit Verf. ist Vandeput, mit Ref. bin natürlich ich gemeint.

„Die Untersuchungen des Verf. befassen sich mit drei Fragen: mit der Größe der Glucolyse im normalen Hundeblut, wenn dessen Zuckergehalt künstlich — bis auf 7,5 g pro Liter — erhöht wird, und mit der Größe der Glucolyse unter den gleichen Bedingungen beim depankreatisierten bzw. beim adrenalinvergifteten Hund.

[1]) Eug. Vandeput, Etudes sur la glycolyse. Arch. internat. de physiol. 9, 292, 1910.

[2]) Centralbl. f. Biochem. u. Biophys. 10 (N. F. 1), 744 bis 746, (Nr. 2474), 1910.

Die defibrinierten Blutproben (20 g) wurden aseptisch bei 40° 1 Stunde gehalten und ihr Glucosegehalt dann nach Bertrand bestimmt, nachdem vorher mit Quecksilbernitrat nach Patein enteiweißt wurde. In gleicher Weise wurde in Kontrollproben bei der Bestimmung des Ausgangsgehaltes an Zucker verfahren.

Zur Illustrierung der mit normalem Blut erhaltenen Ergebnisse sei Versuchsreihe 5 hergesetzt.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
1,169	1,021	0,0023
2,058	1,800	0,0022
2,948	2,500	0,0028
3,838	3,071	0,0037
4,727	3,805	0,0036
5,617	4,573	0,0034

Die Konstante k ist vom Ref. nach der Formel

$$\log c_1 - \log c_2 = 0{,}4343\, t\, k$$

berechnet; für c_1 ist die ursprüngliche, für c_2 die nach der 1 stündigen Glucolyse vorhandene Glucosekonzentration und für t die Zeitdauer der Glucolyse in Minuten (also 60) eingesetzt. Bei den größeren Zuckerkonzentrationen besteht ersichtlicherweise Konstanz. Bei den niedrigeren Zuckerkonzentrationen ist k zu klein; aber schon ein Fehler von 1 bis 2 mg in der Zuckerbestimmung oder eine kleine Inkonstanz der Temperatur oder eine kleine Ungenauigkeit in der Zählung der Zeit würden ausreichen, das Zurückbleiben der Konstante zu erklären.

In den anderen Versuchsreihen ist die Schwankung von k eine gleichartige, während ihr Mittelwert sich aus den einzelnen Versuchsreihen (unter Fortlassung der aus den niedrigen Zuckerkonzentrationen berechneten Werte) zu 0,0030, 0,0032, 0,0059, 0,0040 ergibt. Man wird also zusammenfassend sagen: die Zerstörung des Zuckers erfolgt wie eine Reaktion erster Ordnung[1]), und sich nicht der Ausdrucksweise des Verf. bedienen, der S. 316 sagt: ‚Die Bereicherung des Blutplasmas an Glucose bildet für das glucolytische Ferment eine Erregung', was ebensowenig berechtigt ist, wie wenn man sagen würde, eine konzentriertere Rohrzuckerlösung ist für eine und dieselbe Menge Wasserstoffion eine größere Erregung

[1]) Dieser Satz wurde von mir auch im Original gesperrt!

(‚Excitation') als eine verdünnte Rohrzuckerlösung, weil im ersten Fall in der Zeiteinheit ein Vielfaches der Rohrzuckermenge katalytisch invertiert wird als im zweiten.

Im Blut des total depankreatisierten Hundes behält die Glucolyse zunächst ihren normalen Wert. Das zeigt Versuchsreihe 6, die mit einer 48 Stunden nach der Depankreatisation entnommenen Blutprobe, deren Zuckergehalt fast schon auf 3 g pro Liter gestiegen war, ausgeführt ist.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
2,967	2,287	0,0044
3,884	2,996	0,0043
5,718	4,375	0,0045
6,635	4,654	0,0059

Die Geschwindigkeitskonstante k, wieder nach Berechnung des Ref., zeigt diesmal, da nur höhere Glucosekonzentrationen bestimmt werden mußten, abgesehen vom letzten Wert, Konstanz. In der späteren Zeit nach der Depankreatisation nimmt die Größe der Glucolyse ab. Nach 92 Stunden (Versuchsreihe 10) beträgt der Mittelwert von k nur noch 0,00175 und nach 171 Stunden (Versuchsreihe 15) sogar nur 0,00046. In den beiden Fällen zeigt aber k bis zum höchsten Glucosezusatz eine ganz befriedigende Konstanz. (Denn in Versuchsreihe 10 ergeben sich als einzelne Werte von k 0,0015, 0,0018, 0,0019, 0,0018 nnd in Versuchsreihe 15 0,00047, 0,00041, 0,00049).“

Soweit meine damalige Ausführung. Die wegen der erforderlichen gedrängten Darstellung im Referat fortgelassenen Zahlenunterlagen sind die folgenden:

Versuchsreihe 1.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
1,26	1,031	0,0034
2,268	1,913	0,0028
3,276	2,555	*0,0062[1])
4,284	3,72	0,0024
5,291	4,484	0,0028
6,292	5,131	0,0034
		0,0030

Versuchsreihe 2.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
1,058	0,926	*0,0022
1,978	1,800	*0,0016
2,898	2,322	0,0037
3,818	3,100	0,0035
4,738	4,048	0,0026
5,658	4,747	0,0029
		0,0032

[1]) Die mit einem Sternchen bezeichneten Werte sind bei der Berechnung des Mittelwertes fortgelassen.

Versuchsreihe 3.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
1,095	0,887	*0,0035
2,410	2,270	*0,0019
3,725	2,600	0,0060
5,040	3,671	0,0053
6,355	4,693	0,0061
7,670	5,288	0,0062
		0,0059

Versuchsreihe 4.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
0,997	0,802	0,0036
1,945	1,478	0,0046
2,893	2,249	0,0042
3,841	3,105	0,0035
4,790	3,884	0,0035
5,738	5,132	*0,0019
		0,0040

Versuchsreihe 10.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
3,857	3,533	0,0015
4,761	4,264	0,0018
5,665	5,069	0,0019
6,569	5,900	0,0018
		0,00175

Versuchsreihe 15.

Gramm Glucose im Liter vorher	nachher	k
0,909	0,884	0,00047
2,485	2,429	0,00041
3,996	3,889	0,00049
		0,00046

Abschließend will ich noch darauf hinweisen, daß auf Grund des Vorstehenden die Glucolyse weit eher als eine Reaktion erster Ordnung betrachtet werden kann, als manche andere Fermentreaktion, die dafür gilt. Bei den Fermentreaktionen bezieht sich nämlich die Darstellbarkeit durch die Geschwindigkeitsformel I. Ordnung meistens nur auf die Versuchsreihen einzeln betrachtet, die Konstante ist aber nicht unabhängig von der Anfangskonzentration des Substrates, ist vielmehr im Grenzfall annähernd der Substratkonzentration umgekehrt proportional. Im erörterten Fall der Glucolyse wurde aber als Kriterium eben die Unabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante I. Ordnung von der Anfangskonzentration des Substrates (der Glucose) benutzt, und das Ergebnis hat, unter Würdigung der Beobachtungsfehler, ganz dem entsprochen, was von einer gewöhnlichen chemischen Reaktion I. Ordnung gefordert wird.

Beiträge zur Permeabilität der Blutkörperchen für Traubenzucker.

Von

P. György.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 24. Oktober 1913.)

Nach den übereinstimmenden Angaben einer Reihe von Forschern, wie Hamburger, Gryns, Hedin, Overton, Köppe gehört Traubenzucker zu denjenigen Substanzen, die nicht in die Blutkörperchen eindringen. Die inzwischen ermittelten Befunde über den Zuckergehalt der Blutkörperchen[1]) und seine Zunahme bei alimentärer Hyperglykämie[2]), wie auch eine gewisse Beeinflußbarkeit der Zuckerverteilung auf Körperchen und Plasma bei experimentellen Eingriffen, so z. B. beim Aderlaß[3]), wiesen jedoch darauf hin, daß diese Angabe der Undurchgängigkeit der Blutkörperchen für Traubenzucker eine absolute, allgemeine Gültigkeit nicht beanspruchen kann. Rona und Michaelis haben daher schon vor 4 Jahren Untersuchungen angestellt, zur Prüfung der Bedingungen, die eine Aufnahme von Traubenzucker durch die Blutkörperchen ermöglichen[4]). Die Versuche wurden hauptsächlich an gewaschenen Hammelblutkörperchen angestellt und führten zu dem Ergebnis, daß die in physiologischer Kochsalzlösung (unter FNa-Zusatz) aufgeschwemmten Blutkörperchen selbst in 24 Stunden nichts von Traubenzucker aufgenommen haben. (Vgl. Versuch 1 bis 5 auf S. 516 der VII. Mitteilung)[4]). Aber auch wenn nicht zu den

---

[1]) P. Rona und L. Michaelis, diese Zeitschr. **16**, 60, 1909.

[2]) L. Michaelis und P. Rona, ebenda **18**, 375.

[3]) P. Rona und D. Takahashi, ebenda **30**, 99, 1911.

[4]) P. Rona und L. Michaelis, ebenda **18**, 514, 1909.

in einer eiweißfreien Lösung suspendierten Blutkörperchen, sondern zu dem Hammelblut direkt Zucker hinzugefügt wurde, konnte selbst in 24 Stunden keine Zuckeraufnahme durch die Formelemente konstatiert werden. (Vgl. Versuch 8, S. 517 derselben Mitteilung.)

In dieser Versuchsreihe konnte auch gezeigt werden, daß beim Hammelblut (ohne Zusatz von FNa) nicht nur kein Zucker in die Blutkörperchen eindrang, sondern in 24 Stunden „trotz Gegenwart der roten Blutkörperchen keine Spur Zucker zerstört worden ist", also auch keine glykolytische Funktion der Körperchen zu beobachten war[1]).

Anders wie beim Hammelblut waren die Ergebnisse am Hundeblut, die in derselben Arbeit mitgeteilt sind. Hier wurden in einem Versuch mit einem Blut von 0,135% Zuckergehalt im Plasma und 0,158% im Gesamtblut nach Zusatz von Zucker nach 24 Stunden 0,626% Zucker im Plasma und 0,574% im Gesamtblut gefunden. Unter der Annahme, daß das Blutkörperchenvolumen etwa 33 Vol.-% des Blutes beträgt, ist demnach der Zuckergehalt der Blutkörperchen nach dem Zuckerzusatz von 0,20% auf 0,48% gestiegen. — In einer zweiten Probe von Hundeblut mit 0,225% Plasma-Zucker und 0,188% Blutzucker war der Zuckergehalt des Plasmas nach Zuckerzusatz 1,22%, der des Blutes 0,869%, was ebenfalls unter der Annahme von 33 Vol.-% Blutkörperchen eine Zunahme des Zuckergehaltes der Körperchen von 0,12% auf 0,2% bedeuten würde.

Noch eklatanter war die Aufnahme von Zucker bei den Blutkörperchen des Menschen. In diesen von P. Rona und A. Döblin durchgeführten Untersuchungen[2]) war die Zuckerverteilung auf Plasma und Formelemente sofort nach dem Zuckerzusatz zu dem Gesamtblut (fluoriertes oder geschlagenes steril entnommenes Menschenblut) untersucht worden. Fast in allen Fällen war eine bedeutende Zunahme des Zuckergehaltes der Blutkörperchen nachgewiesen worden. Um nur einige Beispiele zu geben, stieg der Zuckergehalt der Blutkörperchen nach Zu-

[1]) In neuerer Zeit hat A. Loeb (diese Zeitschr. **49**, 413) mehrere Beobachtungen über den Zusammenhang der Permeabilität der Blutkörperchen und der glykolytischen Kraft derselben veröffentlicht.

[2]) Diese Zeitschr. **31**, 215, 1911.

satz von Traubenzucker von 0,089% auf 0,322%, in einem zweiten Falle von 0,056% auf 0,208%, in einem dritten Falle von 0,066% auf 0,243%.

Diese Befunde konnte Masing bestätigen und durch wertvolle Beobachtungen erweitern[1]). Blutkörperchen von Menschen und in geringem Maße von Hund und Rind sind nach seinen Untersuchungen für Zucker permeabel, nicht jedoch die Blutkörperchen von Gans, Kaninchen, Schwein und Hammel. Letztere Blutarten enthielten auch im nativen Zustande keine irgendwie erheblichen Zuckermengen.

All diese Untersuchungen zeigen, daß die Blutkörperchen verschiedener Blutarten sich bezüglich ihrer Aufnahmefähigkeit für Zucker verschieden verhalten. Neuere Arbeiten haben nun ergeben, daß die Permeabilität der Blutkörperchen für Ionen durch äußere Faktoren beeinflußbar ist, und daß auch ihre Resistenz gegen Hämolytika in verschiedenen Medien in einem gewissen Grade geändert werden kann. Es lag demnach durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß auch bei den für Zucker impermeablen Blutkörperchen gewisse Bedingungen auffindbar sein werden, die eine Durchgängigkeit veranlassen oder begünstigen. Ich versuchte daher auf Veranlassung des Leiters des Laboratoriums Herrn P. Rona, durch mannigfaltige Änderung des Mediums diese für die Permeabilität für Traubenzucker günstigen Bedingungen festzustellen[2]).

Meine bis jetzt in dieser Richtung angestellten Untersuchungen führten nicht zum Ziele. Ich arbeitete zunächst meist am Hammelblut, nur in den Versuchen IX und X ist Kaninchenblut verwendet worden. Auf verschiedenen Wegen versuchte ich das Medium der Blutkörperchen zu ändern. Zuerst indem ich die Blutkörperchen abzentrifugierte und die Reaktion des künstlichen Mediums durch verschiedene Reaktionsregulatoren (Phosphat-Acetat-Carbonat-Gemische) variierte. Durch Änderung der Salzmenge wurde auch der Einfluß der Salzkonzentration geprüft. — In einer zweiten Reihe von Versuchen (von Versuch 11 an) wurden die Blutkörperchen nicht abzentrifugiert, sondern der Zucker dem Gesamtblut hinzugefügt. In diesen

[1]) Pflügers Arch. **149**, 227, 1912.

[2]) Einige in dieser Richtung angestellte Versuche teilt auch Masing (l. c.) mit.

Versuchen wurde zunächst die Wirkung einiger Hämolytika (Alkohole) in nicht hämolytischen Konzentrationen auf die Zuckerverteilung geprüft, dann der Einfluß gewisser Salze, namentlich von Calcium- und Aluminiumsalzen, da die dadurch veranlaßte Aufladung der Blutkörperchen möglicherweise einen Einfluß auf die Permeabilität haben konnte.

Was die Methodik anlangt, so geschah die Enteiweißung stets mit kolloidalem Eisenhydroxyd nach Michaelis und Rona, die Zuckerbestimmung nach Bertrand. In zwei Versuchen wurde der Zucker in der Zwischenflüssigkeit und in den Blutkörperchen direkt bestimmt, in den andern die Zuckerverteilung indirekt ermittelt, und zwar in den Versuchen 3 bis 4 aus den Stickstoffwerten der Zwischenflüssigkeit vor und nach der Verdünnung, wie in den Versuchen von Masing, in den übrigen Versuchen stets mittels Hämatokriten. Nähere Einzelheiten sind bei den einzelnen Versuchen angegeben.

Versuch I.

Frisches, geschlagenes Hammelblut wurde stark abzentrifugiert, das Serum abgehoben. Die Blutkörperchen wurden 4 mal mit 8,5 $^0/_0$iger NaCl-Lösung gewaschen, die gewaschenen Blutkörperchen (je 20 ccm) mit den folgenden Flüssigkeiten versetzt:

1. NaCl-Lösung + Glucose, Gesamtvolumen 43 ccm. Die NaCl-Lösung + Glucose setzt sich aus 8 Vol. 1 $^0/_0$ige NaCl + 1 Vol. 2 $^0/_0$ige NaFl + 1 Vol. 5 $^0/_0$ige Glucose zusammen.

2. NaCl-Lösung + Glucose, Gesamtvolumen 45 ccm (wie 1.).

3. 22,5 ccm Phosphatlösung, Gesamtvolumen 42,5 ccm. Die Phosphatlösung besteht aus 8 Vol. Phosphatgemisch $^1/_5$-mol. 1 prim. 7 sek. + 1 Vol. 2 $^0/_0$ige NaF + 1 Vol. 5 $^0/_0$ige Glucose.

4. 24 ccm Phosphatlösung, Gesamtvolumen 44 ccm. Die Phosphatlösung besteht aus 1 Vol. Phosphatgemisch $^1/_9$-mol 8 prim. 1 sek. + 1 Vol. 5 $^0/_0$ige Glucose. H-Ionenkonzentration: $1 \cdot 10^{-6}$.

Probe 2 wurde 30 Minuten auf 56° gehalten.

Alle Proben wurden 40 Minuten lang stehen gelassen. Nachher wurden die Zwischenflüssigkeiten abgehoben und die Blutkörperchen 5 mal zentrifugiert. Die Zuckerbestimmungen wurden in den Zwischenflüssigkeiten und in den von Zwischenflüssigkeiten befreiten Blutkörperchen gesondert ausgeführt.

Tabelle I.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit g-%	Zuckergehalt der Blutkörperchen g-%
1. Mit NaCl gewaschen . .	0,3747	—
2. Mit NaCl gewaschen und auf 56° erwärmt	0,3700	—
3. Mit 1 : 7 Phosphatgemisch gewaschen	0,3539	—
4. Mit einer NaCl + Phosphatlösg. (8 : 1) gewaschen	0,3890	—

Versuch II.

1. Gewaschene Blutkörperchen (20 ccm) + Phosphatgemisch 1 + Glucose. Das Phosphatgemisch 1 besteht aus 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaF + 3 Vol. Phosphat $^2/_9$-mol., 8 : 1[1]) + 2 Vol. 5%ige Glucose.

2. Gewaschene Blutkörperchen (20 ccm) + Phosphatgemisch 2 + Glucose. Das Phosphatgemisch 2 setzt sich aus 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaF + 3 Vol. Phosphat $^2/_9$-mol., 4 : 1 + 2 Vol. 5%ige Glucose.

3. Gewaschene Blutkörperchen (20 ccm) + Phosphatgemisch 3 + Glucose. Das Phosphatgemisch 3 besteht aus 4 Vol. NaCl + 3 Vol. Phosphat $^2/_9$-mol., 1 : 1 + 1 Vol. 2%ige NaF + 2 Vol. 5%ige Glucose.

4. Gewaschene Blutkörperchen (20 ccm) + Phosphatgemisch 4 + Glucose. Das Phosphatgemisch 4 besteht aus 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaFl + 3 Vol. Phosphat 1 : 7 $^1/_5$-mol. + 2 Vol. 5%ige Glucose.

Das Volumen der zugesetzten Flüssigkeit betrug stets 23 ccm.

Tabelle II.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit g-%	Zuckergehalt der Blutkörperchen g-%
1. Phosphatgemisch 8 : 1 . .	0,5652	—
2. „ 4 : 1 . .	0,4973	—
3. „ 1 : 1 . .	0,9450	—
4. „ 1 : 7 . .	0,5870	—

[1]) 8 : 1 usw. bedeutet stets 8 primäres Natriumphosphat : 1 sekundäres Natriumphosphat.

Versuch III.

Das Blut wurde zentrifugiert, ein gewisses Quantum von Serum abgehoben und die Menge desselben durch die angewandten Zuckerlösungen ersetzt. Im abgehobenen Serum machte man eine Kjeldahl-Bestimmung. Das Blut, das jetzt mit den Zuckerlösungen versetzt wurde, wird wieder zentrifugiert und in den abgehobenen Zwischenflüssigkeiten zuerst der Stickstoff nach Kjeldahl, dann der Zucker nach Bertrand bestimmt. Zuletzt bestimmte man den Zuckergehalt der möglichst abzentrifugierten Blutkörperchen. Wenn x die in Prozenten ausgedrückte Zwischenflüssigkeitsmenge, a den Stickstoffgehalt vor der Verdünnung, b denselben nach der Verdünnung und p die zugefügte Lösung bedeutet, so ist $x = \frac{pb}{a-b}$. Weiterhin kennt man noch die abgehobene Zwischenflüssigkeitsmenge. Daraus und aus der Kenntnis der wirklich vorhandenen Zwischenflüssigkeitsmenge kann man die Menge der ev. noch vorhandenen Zwischenflüssigkeit in den abzentrifugierten Blutkörperchen feststellen, die bei der Rechnung in Betracht zu ziehen ist[1]).

Die zugefügten Lösungen hatten folgende Zusammensetzung:

1. 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaFl + 3 Vol. Phosphatgemisch $^2/_9$-mol. (16 : 1) + 2 Vol. 5%ige Glucose.

2. 4 Vol. physiol. NaCl + 1 Vol. 2%ige NaFl + 3 Vol. Phosphatgemisch $^2/_9$-mol. 8 : 1 + 2 Vol. 5%ige Glucose.

3. 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaFl + 3 Vol. Phosphatgemisch (4 : 1) $^2/_9$-mol. 4 : 1 + 2 Vol. 5%ige Glucose.

4. 4 Vol. physiol. NaCl + 3 Vol. Phosphatgemisch $^2/_9$-mol. 1 : 1 + 1 Vol. 2%ige NaFl + 2 Vol. 5%ige Glucose.

5. 4 Vol. 1%ige NaCl + 1 Vol. 2%ige NaFl + 3 Vol. Phosphatgemisch (1 : 7) $^1/_5$-mol. + 2 Vol. 5%ige Glucose.

---

[1]) Vgl. Masing, l. c. S. 229.

Tabelle III.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit g-%	Zuckergehalt der Blutkörperchen g-%
1. Phosphatgemisch 16 : 1 .	0,1296	—
2. „ 8 : 1 .	0,1300	—
3. „ 4 : 1 .	0,1584	—
4. „ 1 : 1 .	0,1470	—
5. „ 1 : 7 .	0,1404	—

Versuch IV.

Hammelblut. Anordnung wie im Versuch III.

Die angewandten Lösungen hatten folgende Zusammensetzung.

1. 3 Vol. physiol. NaCl + 3 Vol. Acetatgemisch $^1/_4$-mol. (16 : 1) + 4 Vol. 5%ige Glucose.

2. 3 Vol. physiol. NaCl + 3 Vol. Phosphatgemisch $^2/_9$-mol. (1 : 1) + 4 Vol. 5%ige Glucose.

3. 3 Vol. physiol. NaCl + 3 Vol. Phosphatgemisch $^1/_5$-mol. (1 : 7) + 4 Vol. 5%ige Glucose.

Tabelle IV.

Hammelblut (mit Hirudin)	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit g-%	Zuckergehalt der Blutkörperchen g-%
1. Acetatgemisch 16 : 1 . .	2,2024	—
2. Phosphatgemisch 1 : 1 . .	2,0940	—
3. „ 1 : 7 . .	1,8188	—

Versuch V.

Frisches, geschlagenes Hammelblut wurde vom Serum frei gewaschen; die Blutkörperchen von 25 ccm Blut wurden mit den betreffenden Lösungen auf 30 ccm aufgefüllt. Zu jeder Probe werden 2 ccm 10%ige Traubenzuckerlösung zugefügt. In diesen Blutkörperchensuspensionen wurde das Volumen der Blutkörperchen mittels Hämatokrit bestimmt.

Angewandte Lösungen:

1. Prim. Na-Phosphat $^2/_9$-mol.
2. Phosphatgemisch 1 : 7 $^2/_9$-mol.
3. Physiol. NaCl.

Hämatokritwert in 1: 30, 2: 28, 3: 35.

Tabelle V.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Primäres Phosphat . . .	0,5112	0,5360
2. Phosphatgemisch	0,5432	0,5522
3. Physiol. NaCl-Lösung .	0,4850	0,5000

Versuch VI.

Anordnung wie bei Versuch V.

Angewandte Lösungen:

1. Sek. Na-Phosphat $^2/_9$-mol.
2. Natr. bicarb. $2\,^0/_0$.
3. Acetatgemisch 1 : 20; $^n/_7$-mol.
4. physiol. NaCl.

Bei der Blutprobe mit dem Acetatgemisch tritt eine geringe Hämolyse auf. Die einzelnen Proben enthielten NaF zu $1\,^0/_{00}$.

Hämatokritwert in 1: 30, 2: 32, 3: 30, 4: 32.

Tabelle VI.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Sekundäres Na-Phosphat .	0,7428	0,7196
2. Natr. bicarb.	0,7626	0,7384
3. Acetatgemisch 1 : 20 . . .	0,7131	0,7196
4. NaCl	0,7140	0,7187

Versuch VII.

Anordnung wie bei Versuch VI. (Mit NaF zu $1\,^0/_{00}$.)

Angewandte Lösungen:

1. Sekundäres Na-Phosphat $^2/_9$-mol.
2. Natr. bicarb. $2\,^0/_0$.

Hämatokritwert in 1: 41, 2: 38.

Tabelle VII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Sekundäres Na-Phosphat .	0,7228	0,6923
2. Natr. bicarb.	0,6874	0,6968

Versuch VIII.

Anordnung wie bei Versuch VI. (Mit NaF zu $1^0/_{00}$.)

Angewandte Lösungen:

1. Natr. bicarb. $2^0/_0$.
2. Physiol. NaCl.

Hämatokritwert in 1: 33, 2: 32.

Tabelle VIII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Natr. bicarb. $2^0/_0$	0,7020	0,6792
2. Physiol. NaCl	0,6900	0,6900

Versuch IX.

Geschlagenes Kaninchenblut. Blutkörperchen von 13 ccm Blut wurden mit 15 ccm der angeführten Lösungen versetzt, dazu 2 ccm $10^0/_0$ige Traubenzuckerlösung.

Anordnung wie bei Versuch VI (mit NaF zu $1^0/_{00}$).

Angewandte Lösungen:

1. Sekundäres Na-Phosphat $^2/_9$-mol.
2. Physiol. NaCl.

Hämatokritwert in 1: 11, 2: 9.

Tabelle IX.

Kaninchenblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Sekundäres Na-Phosphat	0,940	0,980
2. Physiol. NaCl	0,980	1,020

Versuch X.

Blutkörperchen von 20 ccm geschlagenem Kaninchenblut wurden mit 10 ccm der angegebenen Lösungen versetzt, dazu 2 ccm 10%ige Traubenzuckerlösung gegeben (mit 1‰ NaF).

Angewandte Lösungen:

1. Natr. bicarb. 2%.
2. Sekundäres Natriumphosphat $^2/_9$-mol.
3. Physiol. NaCl.

Hämatokritwert in 1: 19, 2: 20, 3: 16.

Tabelle X.

Kaninchenblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Natr. bicarb. 2%	1,1255	1,1551
2. Sekundäres Phosphat . .	1,0815	1,0804
3. Physiol. NaCl	0,8411	0,8648

Untersuchungen am Gesamtblut.

Versuch XI.

Zu je 60 ccm geschlagenen Hammelbluts wurden die folgenden Lösungen hinzugefügt:

1. 1 ccm Methylalkohol + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 1 ccm Äthylalkohol + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 10 ccm 2% Natr. bicarb. + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 10 ccm physiol. NaCl + 2 ccm 10%ige Glucose.

Die einzelnen Proben enthielten 1‰ NaF. Hämatokritwert in 1: 36, 2: 36, 3: 26,5, 4: 26.

Tabelle XI.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Methylalkohol	0,3580	0,3661
2. Äthylalkohol	0,3370	0,3233
3. Natr. bicarb.	0,3228	0,3162
4. Physiol. NaCl	0,4072	0,4236

Versuch XII.

Anordnung wie bei Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut).

1. 1 ccm Methylalkohol + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
2. 1 ccm Äthylalkohol + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
3. 1 ccm Butylalkohol (tert.) + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
4. 2 ccm Glycerin + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 40, 2: 40, 3: 40, 4: 36.

Tabelle XII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Methylalkohol	0,3560	0,3449
2. Äthylalkohol	0,3498	0,3449
3. Butylalkohol (tert.) . . .	0,3806	0,3830
4. Glycerin	0,3701	0,3649

Versuch XIII.

Anordnung wie bei Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 50 ccm Blut):

1. 10 ccm $^2/_9$-mol. primäres Na-Phosphat + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
2. 10 ccm $^1/_{10}$-mol. Na-Acetat + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
3. 10 ccm $^1/_{10}$-mol. NH_4Cl + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.
4. 10 ccm $0{,}9^0/_0$ NaCl + 2 ccm $10^0/_0$ige Glucose.

Die Proben mit dem Na-Acetat und mit dem NH_4Cl waren etwas hämolytisch. Die einzelnen Proben enthielten $1^0/_{00}$ NaF.

Hämatokritwert in 1: 36, 2: 40, 3: 37, 4: 36.

Tabelle XIII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Primäres Na-Phosphat . .	0,2721	0,2595
2. Na-Acetat	0,2727	0,2854
3. Ammoniumchlorid . . .	0,3009	0,2912
4. NaCl	0,2951	0,2929

Versuch XIV.

Anordnung wie bei Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut):

1. 5 ccm 2,5%ige $AlCl_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 5 ccm 2,5%ige $AlCl_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 10 ccm 5%ige $CaCl_2$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 10 ccm 5%ige $MgCl_2$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
5. 10 ccm 0,9%ige NaCl + 2 ccm 10%ige Glucose.

Die Proben 1 und 2 waren etwas hämolytisch.

Hämatokritwert in 1: 49, 2: 45, 3: 36, 4: 36, 5: 36.

Tabelle XIV.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. $AlCl_3$ (2,5%)	0,3179	0,3022
2. $AlCl_3$ (2,5%)	0,3026	0,2842
3. $CaCl_2$ (5%)	0,2924	0,3011
4. $MgCl_2$ (5%)	0,3121	0,3004
5. NaCl (0,9%)	0,2931	0,2982

Versuch XV.

Anordnung wie beim Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut):

1. 5 ccm 5%ige $AlCl_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 5 ccm 5%ige $MgCl_2$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 5 ccm 0,9%ige NaCl + 2 ccm 10%ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 42, 2: 40, 3: 40.

Tabelle XV.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. $AlCl_3$	0,2849	0,2703
2. $MgCl_2$	0,2966	0,2765
3. NaCl	0,2939	0,2833

Versuch XVI.

Anordnung wie beim Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut):

1. 5 ccm 5%ige $AlCl_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 5 ccm 5%ige $MgCl_2$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 5 ccm 5%ige $MnSO_4$ + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 5 ccm 4%ige $NaSO_4$ + 2 ccm 10%ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 43, 2: 36, 3: 36, 4: 36.

Tabelle XVI.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. $AlCl_3$	0,3071	0,3079
2. $MgCl_2$	0,3025	0,3044
3. $MnSO_4$	0,3834	0,3933
4. Na_2SO_4	0,3565	0,3465

Versuch XVII.

Anordnung wie beim Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut):

1. 5 ccm 2%ige KCN + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 5 ccm 1,5%ige KCl + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 5 ccm 2%ige Na_2CO_3 + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 5 ccm 2%ige $NaNO_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 35, 2: 36, 3: 37, 4: 35.

Tabelle XVII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. KCN	0,2823	0,2900
2. KCl	0,2743	0,2863
3. Na_2CO_3	0,2593	0,2609
4. $NaNO_3$	0,2377	0,2667 (?)

Versuch XVIII.

Anordnung wie beim Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 60 ccm Blut):

1. 10 ccm 1,5%ige KCl + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 10 ccm 2%ige KCN + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 10 ccm 2%ige Na_2CO_3 + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 10 ccm 2%ige $NaNO_3$ + 2 ccm 10%ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 34, 2: 34, 3: 33, 4: 35.

Tabelle XVIII.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. KCl	0,2961	0,2884
2. KCN	0,2913	0,2837
3. Na_2CO_3	0,3049	0,2971
4. $NaNO_3$	0,3115	0,3080

Versuch XIX.

Anordnung wie beim Versuch XI.

Angewandte Lösungen (für je 50 ccm Blut):

1. 10 ccm 2,5%ige Harnstoff + 2 ccm 10%ige Glucose.
2. 10 ccm 2,5%ige Natr. oxalic. + 2 ccm 10%ige Glucose.
3. 10 ccm 6%ige Natr. tartr. + 2 ccm 10%ige Glucose.
4. 10 ccm 0,9%ige NaCl + 2 ccm 10%ige Glucose.

Hämatokritwert in 1: 33, 2: 29, 3: 29, 4: 30.

Tabelle XIX.

Hammelblut (geschlagen)	Zuckergehalt des Blutes g-%	Zuckergehalt der Zwischenflüssigkeit in 100 ccm Blut g
1. Harnstoff	0,3437	0,3571
2. Natr. oxalic.	0,3615	0,3537
3. Natr. tartr-	0,3711	0,3537
4. NaCl	0,3442	0,3487

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich demnach, daß es nicht gelingt, durch die angewandten Mittel — Änderung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration, Zusatz von Hämolytika und von

Neutralsalzen — die Blutkörperchen von Hammeln so zu beeinflussen, daß sie für Zucker permeabel werden. Der Zuckergehalt des Gesamtblutes und der „Zwischenflüssigkeit“ war innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik gleich; die zuweilen vorkommenden geringen Differenzen lassen einen Schluß auf eine Permeabilität der Blutkörperchen für Zucker nicht zu. Weitere Untersuchungen, die im hiesigen Laboratorium bereits im Gange sind, müssen zeigen, ob es überhaupt möglich ist, den großen artspezifischen Unterschied, der zwischen den verschiedenen Tierarten in bezug auf die Zuckerdurchgängigkeit der Blutkörperchen besteht, durch Änderung ihres Mediums aufzuheben.

Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung.

I. Mitteilung[1]).

Von

Erwin Thomas.

(Aus dem Kaiserin Auguste Viktoria-Haus zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit im Deutschen Reiche.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1913.)

Einleitung.

Nur selten wurde bisher der Versuch gemacht, auf dem Wege des Tierexperimentes die Beziehungen von Infektion und Ernährung zu studieren. Als man nach dem Eintritt der bakteriologischen Ära lernte, fast gesetzmäßig durch spezifische Erreger spezifische Infektionen hervorzurufen, traten die Eigenschaften der Versuchstiere, die Bedingungen, unter denen sie lebten, gegenüber der Menge und Virulenz der verwendeten Bakterien in den Hintergrund. Noch bevor sich gegen diese Richtung eine Reaktion geltend machte, welche die Gegenseitigkeit der Beziehungen zwischen Bakterien und befallenem Organismus wiederum hervorhob, hatten doch schon wenig bemerkte Versuche stattgefunden, einen Einfluß „äußerer Faktoren" auf die Infektion festzustellen. Feser fand schon im Jahre 1879, daß man durch Fleischfütterung die Widerstandsfähigkeit der Ratten gegen Milzbrand erhöhen könne. Von Strauß wurden die Angaben zwar nicht bestätigt, allein Lubarsch sah eine eingehende Nachprüfung derselben durch K. Müller als beweisend im Sinne Fesers an. Von neueren Arbeiten, die sich nicht mit den Beziehungen von Hunger und

[1]) Vorgetragen auf der Tagung der Gesellschaft für Kinderheilkunde, September 1913 zu Wien.

Durst zur Infektion, sondern mit dem Einfluß qualitativer Faktoren auf diese beschäftigen, ist die viel zitierte Arbeit von Weigert zu erwähnen. Dieser Autor ernährte Ferkel einerseits mit Vollmilch, der Fette zugesetzt waren, andererseits mit Buttermilch. Sodann infizierte er die Tiere mit Perlsuchtbacillen und fütterte sie auch nach der Infektion mit den entsprechenden Mischungen weiter. Bei der Sektion ergab sich, daß die Kohlenhydrattiere eine weit stärker fortgeschrittene Tuberkulose aufwiesen als die Fettiere.

Allgemeine Methodik.

Die allgemeine Methodik derartiger Versuche muß sich herleiten aus der Bestimmung der Begriffe „Infektion" und „Ernährung". Es muß streng geschieden werden: der Eintritt einer Infektion und ihr Verlauf. Wenn krankmachende Erreger in festes oder flüssiges Körpergewebe eingedrungen sind, so hängt die Frage, inwieweit sie sich vermehren können, davon ab, welche Abwehrvorrichtungen von dem befallenen Organismus im Augenblick des Eindringens entgegengestellt werden können. Es wäre denkbar, daß der Zustand dieser Abwehrvorrichtungen in Beziehung steht zu dem Ernährungszustand, d. h. dem Besitz des betreffenden Organismus an lebenswichtigen Bestandteilen, gemessen an einem optimal beschaffenen Individuum derselben Art und Rasse, desselben Alters und vielleicht Geschlechtes. Es scheint von vornherein wahrscheinlich, daß eine Herabsetzung des Ernährungszustandes von einer Herabsetzung des Zustandes der Abwehrvorrichtungen gefolgt ist. Experimentell ist das mehrfach nicht erweisbar gewesen. Der Frage, ob durch vorzugsweise Ernährung mit einer bestimmten Art von Nahrungsmitteln eine Veränderung der Abwehrvorrichtungen für den Augenblick der Infektion sich erzielen läßt, geht mit Notwendigkeit eine andere voraus: ob sich durch vorzugsweise Ernährung mit einer bestimmten Art von Nahrung ein bestimmter, von anderen unterscheidbarer, aber den physiologischen Anforderungen entsprechender Ernährungszustand erzeugen läßt, dem eine bestimmte Zusammensetzung des Körpers zugrunde liegt. So wichtig es jedoch sein würde, über den Besitzstand des Organismus an chemisch definierten, vor allem

aber auch chemisch undefinierten (Serum-) Stoffen nach einer bestimmten Ernährung unterrichtet zu sein, so wird doch, solange wir diese Dinge nicht vollkommen durchschauen können, das Experiment am Tier nach der vorwiegend klinisch-anatomischen Richtung hin noch am ehesten Analogieschlüsse zu menschlichen Infektionen zulassen. Die Versuchsanordnung geht aus den Begriffen hervor: Man wird Tiere der gleichen Art in Gruppen teilen, diese Gruppen einseitig ernähren, ohne sie krank zu machen, und dann einer Infektion aussetzen. Eine akute, sehr foudroyant verlaufende Infektionskrankheit wird wahrscheinlich noch am ehesten Differenzen im Verhalten

Tabelle I.

Fragestellung	Chemisch in Betracht kommen	Biologisch in Betracht kommen	Versuchsanordnung
a) Prüfung auf Resistenz bei differentem, aber physiologischem Ernährungszustand.	Verschiebungen im Gehalt und in der Anordnung lebenswichtiger Bestandteile? Änderungen der Zusammensetzung des Körpers?	Änderungen im Zustande der Abwehrbereitschaft, im Gehalt an Serumstoffen unspezifischer Art (normale Serumkörper).	Nach langer Anreicherung mit differenten Stoffen: 1. Infektion mit sehr rasch tödlichen Erregern. 2. Erzeugung einer chronisch. Infektionskrankheit. Während der Inkubationszeit Umsetzen auf andere Nahrung: α) auf eine indifferente; β) auf eine differente.
b) Prüfung der Beeinflussung des Infektionsverlaufes bei bestimmter Ernährung.	Verschiedener Verlust an lebenswichtigen Bestandteilen?	Verschiedene Bildung spezifischer Antikörper?	1. Vorernährung indifferent. 2. Während der Inkubation Umsetzen. 3. Während der Inkubationsperiode differente Ernährung.
c) Prüfung auf das gesamte Verhalten bei bestimmter Ernährung einer Infektion gegenüber.	a + b	a + b	a + b

der einzelnen Gruppen aufdecken. Anders würde sich die Versuchsanordnung gegenüber subakuten und chronischen In-

fektionen gestalten müssen. Hier müßte die einseitige Ernährung im Verlaufe der Inkubationszeit geändert werden, um die Frage der Beeinflussung des Eintrittes und des Verlaufes der Infektion getrennt beobachten zu können.

Einfacher gestaltet sich der Verlauf eines Versuches, in dem der Einfluß der Ernährung auf eine bereits ausgebrochene Infektionskrankheit Gegenstand der Untersuchung ist. Hier handelt es sich darum, nach einer Periode mit indifferenter Ernährung zu infizieren und im Verlaufe der Infektion Gruppen von Tieren der gleichen Art auf bestimmte Weise zu ernähren. In Tabelle I sind die für Versuche über den Zusammenhang von Infektion und Ernährung in Betracht kommenden Punkte aufgezeichnet. Es ist möglich, für jede Fragestellung ein oder mehrere Beispiele zwecks experimenteller Prüfung zu finden.

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung, über die in folgendem berichtet werden soll, hatte die Frage der Beeinflussung des Verlaufes einer Tuberkulose an Ferkeln bei verschiedener Art der Ernährung zum Gegenstand. Mit den Weigertschen Versuchen stimmt sie also überein bezüglich der Wahl der Versuchstiere und der Wahl der Infektionskrankheit. Sie unterscheidet sich jedoch von ihnen sowie von allen früheren Arbeiten auf diesem Gebiete durch folgendes:

Erstens war der Plan des Versuches, auf die obenerwähnten Unterschiede fußend, von vornherein auf eine der drei Fragestellungen zugeschnitten.

Zweitens wurden 4 Gruppen zum Vergleich genommen, außer einer Kohlenhydrat- und Fettgruppe auch eine Eiweiß- und gemischte Gruppe. Den infizierten Gruppen werden entsprechende nicht infizierte gegenübergestellt, um im Falle eintretender Störungen zeigen zu können, daß diese nicht durch die Ernährung bedingt waren (s. Gewichtstabelle II am Schluß der Arbeit).

Drittens wurde auf die quantitative Seite der Fütterung weitgehende Rücksicht genommen. Denn es kann keinem Zweifel unterliegen, daß ein Vergleich der Gruppen nur dann möglich ist, wenn diese gleichviel Calorien, gleichviel Wasser und Salze erhalten (s. Tabelle III). Dies wurde dadurch er-

Tabelle. III.

Zusammenstellung der für die Anreicherung verwendeten Calorien.

Zeit	Tage	Produkt Palmin	Produkt Kohlenhydrat	Produkt Eiweiß
3. V. bis 9. V.	7	6510	7168	6538
10. V. „ 14. V.	5	5300	4650	5290
15. V. „ 17. V.	3	3600	3552	3600
18. V. „ 20. V.	3	4020	4020	4017
21. V. „ 27. V.	7	10220	10220	10199
28. V. „ 20. VI.	24	70752	70752	70680
Sa.	49	100402	100362	100324
pro Tier		25100	25090	25081

Cal. aus Halbmilch für jede Gruppe mit 4 Tieren während d. Hauptp.: $3500 \times 49 = 171500$.

Cal. aus Halbmilch für jedes Tier: 42875.

Die 3 gemischt genährten Tiere erhielten als Zusatz:

26029 Fett
26044 Kohlenhydrate
25035 Eiweiß
77108

pro Tier also 25703 Calorien.

Tabelle IV.

	Zeit	Durchschnittsgewicht g	Gesamtcalorien pro Tag und Tier	Gesamtcalorien pro 1000 g Tier tägl.	Anreicherungscalorien pro Tag und Tier	Anreicherungscalorien in % der Ges.-Cal.
Vorperiode	26. III. bis 1. IV.	8188	929	112,0	—	—
	1. IV. „ 7. IV.	9265	996	107,0	—	—
	8. IV. „ 11. IV.	9610	1030	107,0	—	—
	12. IV. „ 15. IV.	10090	1027	102,0	—	—
	16. IV. „ 22. IV.	10450	1091	104,4	—	—
Übergangsper.	23. IV. bis 2. V.	11650	1102	94,5	Sehr geringe Anreicherung, auch von der anderen Nahrung kleine Mengen gegeben.	
Hauptperiode I	3. V. bis 9. V.	12470	1116	89,0	241	21,6
	10. V. „ 14. V.	13014	1129	86,7	255	22,5
	15. V. „ 17. V.	13300	1174	88,0	298	25,4
	18. V. „ 20. V.	13373	1210	90,4	335	27,7
	21. V. „ 27. V.	13963	1240	89,0	364	29,3
II	28. V. „ 20. VI.	15795	1612	102,0	725	45,0

Siehe Bemerkung am Schluß der Arbeit!

reicht, daß die einzelnen Gruppen dieselbe Halbmilch erhielten, und in dieser die verschiedenen Anreicherungsstoffe in möglichst reiner Form in isodynamen Mengen suspendiert. Während die Halbmilchmenge bis zum Schluß des Versuches immer die gleiche blieb, wurden die Zusatzcalorien für die einzelnen Gruppen langsam gesteigert und nur dadurch der Mehrbedarf an Calorien bestritten (s. Tabelle IV).

Gegen dies Prinzip einer quantitativen Fütterung verstößt nur anscheinend die Tatsache, daß die Tiere nicht einzeln, sondern in Gruppen gefüttert wurden. Indessen lag dies doch im Plan des Versuches. Es sollte nicht das Verhalten einzelner Tiere, sondern dasjenige von Tiergruppen verfolgt werden.

So war z. B. zu erwarten, daß vielleicht die Kohlenhydratgruppe während des Verlaufes der Infektion in ihrer Gewichtszunahme stärker alteriert würde als die anderen. Es hätte aber auch eintreten können, daß z. B. das eine infizierte Kohlenhydrattier stark abgenommen, das andere aber stark zugenommen hätte, so daß der Durchschnitt nicht mehr unter der mittleren Zunahme der anderen Tiere gelegen hätte. Nur der Wert der Gruppe ist mit dem anderen vergleichbar. Wenn das eine Tier einmal weniger fraß, so fraß es vielleicht das nächste Mal desto mehr. Jedenfalls haben die einzelnen Gruppen ihre Tröge jedesmal quantitativ geleert. Ferner ist es keine Frage, daß dem Geselligkeitstrieb und dem Wohlbefinden der jungen Tiere durch das Zusammensein mit den anderen viel genützt wird.

Vergleichbar mußten selbstverständlich die Versuchstiere in anderer Richtung sein. Sie waren gleichaltrig (4 Wochen alt), gleich lange bei der Mutter gewesen, bestanden aus einem Wurf von 10 und einem von 5 Tieren, die bereits jung vermengt wurden, um sie aneinander zu gewöhnen. Aber die Tiere müssen auch konstitutionell gleichwertig sein. Je 1 Tier der Kohlenhydrat- und Fettgruppe blieb in der Zunahme zurück. Beide Tiere zeigten weniger Freßlust, unterschieden sich aber sonst in keiner Weise von den anderen, außer daß sie einen auffallend mageren Rücken und schmale Schenkel hatten. Den Tierzüchtern sind solche Tiere bekannt, sie wissen, daß sie sich langsam entwickeln. Die erwähnten Tiere blieben noch lange in unserer Beobachtung und entwickelten sich in leid-

licher Weise bei einem aus Küchenabfällen und Milch usw. bestehenden, sonst für Schweine üblichen Futter.

Die Tiere wurden während der ganzen Beobachtungszeit zweimal wöchentlich vor der Abendfütterung gewogen. (Gewichtstabelle siehe Schluß der Arbeit.)

Es war nicht zu verhindern, daß die Tiere von dem Stroh in ihren Boxen etwas fraßen, wie man bei der Sektion bemerken konnte, daß kleine Mengen von Stroh bei allen Tieren im Magen auffindbar waren. Da indessen alle Tiere Stroh fraßen, so dürfte das keinen Unterschied ausmachen und zu vernachlässigen sein.

Im einzelnen war der Verlauf des Versuches folgender:

I. Vorperiode. In dieser wurden die Tiere zunächst vollkommen gemeinsam ernährt mit einem für Ferkel gebräuchlichen Futter. In dem II. Teil der Vorperiode wurden diesem gemeinsam für alle Tiere diejenigen Stoffe zugesetzt, die später zur spezifischen Anreicherung verwendet werden sollten (Palmin als Fett, Kartoffel und Zucker als Kohlenhydrat, Casein als Eiweiß). Diese Vorperiode hatte den Zweck, den Ernährungszustand der Tiere möglichst gleichheitlich zu gestalten, dann aber auch, sie an die darzureichenden Zusätze zu gewöhnen.

Die Ernährung für die 15 Ferkel bestand zunächst in 18 l Vollmilch und 12 l Zusatzflüssigkeit. In dieser waren 85 g Weizenmehl enthalten und es wurden zuerst 1000 g, sodann ab 1. IV. 2000 g Kartoffel hinzugefügt. Die Calorien pro 1 kg Tier betrugen zuerst 112,6, sodann 107,5[1]).

[1]) Die im Verlaufe des Versuchs weiterhin gegebenen Calorien sind am Schlusse der Mitteilung auf Tabelle II zusammengestellt. Die dargereichten Nährstoffe wurden calorisch folgendermaßen in Rechnung gesetzt:

1000 g Halbmilch . . 350 Cal
1000 g Kartoffel . . . 1000 „
1 g Casein . . . . 5,13 „
(Bei Annahme von 10% Wassergehalt des durch Säurefällung gewonnenen Caseins Kahlbaum („klarlöslich".)
1 g Zucker . . . . 4,00 Cal
(Geringer Wassergehalt des Rohrzuckers.)
1 g Palmin . . . . 9,30 Cal
(Palmin besteht zu über 99% aus Fett.)
1 g Weizenmehl . 3,57 Cal (10% Wasser).

Ab 8. IV. erhielten die Tiere:

15 l Wasser,
18 l Vollmilch,
90 g Weizenmehl,
41 g Palmin,
20 g Zucker,
68 g Casein,
1600 g Kartoffel.

Die Lösung des Palmins erfolgte in der Weise, daß es erwärmt und in einem kleinen Teile der Milchverdünnung kräftig geschüttelt wurde. Es teilte sich in Form einer feinen Suspension der Milchverdünnung mit und wurde dann zu dem übrigen Gemenge gegossen.

Das Casein wurde mit der Mischung gekocht und verteilte sich natürlich nicht so gleichmäßig, konnte indessen durch leichtes Umrühren usw. bequem suspendiert werden, wenn es sich etwas gesetzt hatte.

Die Mischung wurde auf 4 Eimer für 4 Mahlzeiten verteilt, die abgewogenen Kartoffelmengen bei jeder Mahlzeit zugelegt.

Ab 12. IV. wurden für alle Tiere 37 l Halbmilch gegeben, die Fett- und Eiweißcalorien gesteigert, die Kohlenhydratcalorien so vermindert, daß von allen drei Arten gleich viel Calorien zugesetzt wurden.

Ab 16. IV. wurden die Zusatzcalorien nochmals gesteigert.

II. Übergangsperiode. In dieser wurde die Hälfte der zuletzt für alle Tiere gemeinsam gegebenen Nahrung und die Hälfte der Versuchsnahrung gegeben. Es wurden neben spezifischen auch noch kleine Mengen der entgegengesetzten Stoffe hinzugefügt. Die Übergangsperiode hatte den Zweck, den Wechsel der Nahrung für die Tiere schonend zu gestalten. Gegen das Ende der Übergangsperiode fand die Infektion statt, durch subcutane Injektion etwa der gleichen Mengen von Tuberkelbacillen des Typus bovinus, die durch die Körpergewichte der Tiere in geringer Weise modifiziert waren. Genaueres darüber s. Mitteilung II von O. Hornemann.

Die Ernährung während dieser Periode war folgende:

I. (4 Tiere):

10 l Halbmilch . . .	3500	Cal
64 g Palmin	595	„
104 g Kartoffel . . .	104	„
14 g Zucker	56	„
30 g Casein	153	„
	4408	Cal.

II. (4 Tiere):

9,8 l	Halbmilch . . .	3430 Cal
240 g	Kartoffel	240 „
87 g	Zucker	348 „
20 g	Palmin	196 „
38 g	Casein	195 „
		4409 Cal.

III. (4 Tiere):

10 l	Halbmilch . . .	3500 Cal
116 g	Casein	596 „
17 g	Palmin	158 „
70 g	Kartoffel	70 „
21 g	Zucker	84 „
		4406 Cal.

IV. (3 Tiere):

7,5 l	Halbmilch . . .	2625 Cal
25 g	Palmin	232 „
45 g	Casein	231 „
35 g	Zucker	140 „
85 g	Kartoffel	85 „
		3313 Cal.

III. Hauptperiode A. Abschnitt der schwachen Anreicherung.

Von hier ab wurde eine schwache, aber doch eklatante Anreicherung der als Grundlage dienenden, in immer derselben Menge gegebenen Halbmilch mit den spezifischen Stoffen für die einzelnen Gruppen vorgenommen. Die Anreicherung (Prozent der Gesamtnahrung) stieg in diesem Abschnitt der Hauptperiode oder von 21 auf 29 %.

Da in diesem Stadium die Gefahr des Ausbruches einer offenen Tuberkulose und der Ansteckung der Kontrolltiere nicht in Frage kam, blieben sie mit den infizierten Tieren zunächst noch zusammen. Die Isolierung erfolgte sodann am 10. V. Die Einteilung der Tiere war sodann folgende:

	Fett	Kohlenhydrat	Eiweiß	Gemischt
Infiziert	2 Tiere	2 Tiere	2 Tiere	1 Tier
Nicht infiziert .	2 „	2 „	2 „	2 Tiere

Ab 7. V. wurden statt 4 noch 3 Mahlzeiten gegeben. Die zur spezifischen Anreicherung verwendeten Calorien betrugen zuerst 21,6% der Gesamtcalorien und stiegen sodann auf 22,6, 25,4, 27,7, 29%. Ich führe die Nahrung für diese Periode vollständig auf.

a) 8. V. bis 9. V. 1913.

Fettgruppe (4 Tiere):

10 l	Halbmilch . . .	3500 Cal
100 g	Palmin	930 „
		4430 Cal.

Kohlenhydratgruppe (4 Tiere[1]):

9,6 l	Halbmilch . . .	3360 Cal.
480 g	Kartoffel	480 „
171 g	Zucker	684 „
		4524 Cal.

Eiweißgruppe (4 Tiere):

10 l	Halbmilch . . .	3500 Cal
182 g	Casein	934 „
		4434 Cal.

Gemischte Gruppe (3 Tiere):

7,5 l	Halbmilch . . .	2625 Cal
23 g	Palmin	214 „
50 g	Casein	256 „
35 g	Zucker	140 „
100 g	Kartoffel . . .	100 „
		3335 Cal.

Also Zusatzcalorien aus:

Fett	214 Cal
Kohlenhydrat	240 „
Eiweiß	256 „

b) 10. bis 14. V. 1913.

Fettgruppen (2 × 2 Tiere):

10 l	Halbmilch . . .	3500 Cal
+ 114 g	Palmin	1060 „
		4560 Cal.

Kohlenhydratgruppen (2 × 2 Tiere):

9,6 l	Halbmilch . . .	3360 Cal
500 g	Kartoffel	500 „
142 g	Zucker	570 „
		4430 Cal.

Eiweißgruppen (2 × 2 Tiere):
10 l Halbmilch . . . 3500 Cal
206 g Casein . . . . . 1058 „
4558 Cal.

Gemischte Gruppen (2 + 1 Tier):
7,5 l Halbmilch . . . 2625 Cal
29 g Palmin . . . . . 270 „
100 g Kartoffel . . . . 100 „
42 g Zucker . . . . . 168 „
52 g Casein . . . . . 267 „
3430 Cal.

Also Zusatzcalorien aus:
Fett . . . . 270 Cal
Kohlenhydrat 268 „
Eiweiß . . . 267 „

c) 15. V. bis 17. V. 1913.

Fettgruppen (2 × 2 Tiere):
10 l Halbmilch . . . 3500 Cal
129 g Palmin . . . . . 1200 „
4700 Cal.

Kohlenhydratgruppen (2 × 2 Tiere:
9,6 l Halbmilch . . . 3360 Cal
500 g Kartoffel . . . . 500 „
206 g Zucker . . . . . 824 „
4684 Cal.

Eiweißgruppen (2 × 2 Tiere):
10 l Halbmilch . . . . 3500 Cal
234 g Casein . . . . . 1200 „
4700 Cal.

Gemischte Gruppen (2 + 1 Tier):
7,5 l Halbmilch . . . 2525 Cal
32 g Palmin . . . . . 307 „
51 g Zucker . . . . . 204 „
100 g Kartoffel . . . . 100 „
58 g Casein . . . . . 297 „
3433 Cal.

Also Zusatzcalorien aus:
Fett . . . . . 297,5 Cal
Zucker . . . 304 „
Eiweiß . . . 297 „

d) 18. V. bis 20. V. 1913.

Fettgruppen (2 × 2 Tiere):
10 l Halbmilch . . . . 3500 Cal
+ 144 g Palmin . . . . . 1340 „
4840 Cal.

Kohlenhydratgruppen (2 × 2 Tiere):

9,6 l Halbmilch	3360 Cal
500 g Kartoffel	500 „
245 g Zucker	980 „
	4840 Cal.

Eiweißgruppen (2 × 2 Tiere):

10 l Halbmilch	3500 Cal
261 g Casein	1339 „
	4839 Cal.

Gemischte Gruppen (2 + 1 Tier):

7,5 l Halbmilch	2625 Cal
36 g Palmin	335 „
60 g Zucker	240 „
100 g Kartoffel	100 „
65 g Casein	333 „
	3633 Cal.

Also Zusatzcalorien aus:

Fett	335 Cal
Kohlenhydrat .	340 „
Casein	333 „

e) 21. V. bis 28. V. 1913.

Fettgruppen (2 × 2 Tiere):

10 l Halbmilch	3500 Cal
+ 157 g Palmin	1460 „
	4960 Cal

+ 600 ccm Wasser pro Tier.

Kohlenhydratgruppen (2 × 2 Tiere:

9,6 l Halbmilch	3360 Cal
500 g Kartoffel	500 „
275 g Zucker	1100 „
	4960 Cal

+ 600 ccm Wasser pro Tier.

Eiweißgruppen (2 + 2 Tiere):

10 l Halbmilch	3500 Cal
284 g Casein	1457 „
	4957 Cal.

Gemischte Gruppen (3 Tiere):

7,5 l Halbmilch	2625 Cal
39 g Palmin	363 „
67 g Zucker	264 „
100 g Kartoffel	100 „
71 g Casein	364 „
	3716 Cal

+ 400 ccm Wasser.

Also Zusatzcalorien aus:

Fett	363 Cal
Kohlenhydrat .	364 „
Casein	364 „

Hauptperiode B. Abschnitt der starken Anreicherung.

Um den Einfluß der verschiedenen Fütterung möglichst einwandfrei zur Geltung zu bringen, mußten noch mehr spezifische Calorien hinzugefügt werden. Denn vermutlich war die Ausbreitung der Krankheit jetzt im vollen Gange. Die Zusatzcalorien wurden auf 45 % gesteigert, und, um die immerhin schon recht konzentrierte Nahrung erträglicher zu machen, pro Tier und Tag 12 g Kochsalz hinzugefügt. Die Diät blieb während der ganzen Periode dieselbe.

I. Fettgruppen:

10 l Halbmilch	3500 Cal
+ 317 g Palmin	2948 „
	6448 Cal.
Dazu pro Tag und Tier	200 g Wasser
	12 g Kochsalz.

II. Kohlenhydratgruppen:

9,6 l Halbmilch	3360 Cal
500 g Kartoffel	500 „
647 g Zucker	2588 „
	6448 Cal.

Wasser und Kochsalz wie I.

III. Eiweißgruppen:

10 l Halbmilch	3500 Cal
+ 574 g Casein	2945 „
	6445 Cal.

Wasser und Kochsalz wie I.

IV. Gemischte Gruppen (3 Tiere):

7,5 l Halbmilch	2625 Cal
80 g Palmin	744 „
160 g Zucker	640 „
143 g Casein	734 „
100 g Kartoffel	100 „
	4843 Cal

Wasser und Kochsalz wie I.

Zusatzcalorien wie I.:

aus Fett	744 Cal
„ Kohlenhydrat	740 „
„ Eiweiß . . .	734 „

IV. Schluß der Hauptperiode.

Bezüglich der Gewichtszunahme, der Freßlust, wie überhaupt des Allgemeinbefindens der Tiere waren keine Störungen zu bemerken[1]). Indessen trat bei einigen Tieren ab und zu trockener Reizhusten auf. Es fragt sich nun, ob es richtiger sei, der Infektion ihren Lauf zu lassen und abzuwarten, welche Gruppe derselben zuerst erliegen würde, oder ob es richtiger sei, in diesem Stadium zu sezieren, wo man die Zahl der aufgetretenen Tuberkelknötchen noch einigermaßen abschätzen und vergleichen konnte. Der letztere Weg wurde beschritten. Über das Ergebnis der Sektion wird die Mitteilung von O. Hornemann ausführliche Aufschlüsse enthalten. Beide Eiweißtiere beherbergten im Gegensatz zu den beiden Kohlenhydrattieren nur ganz wenige Tuberkelknötchen, die Fetttiere verhielten sich verschieden, das einzelne gemischt genährte Tier ließ ebenfalls eine ziemlich ausgebreitete Tuberkulose erkennen.

Schlüsse allgemeiner Art konnten aus dem Versuchsergebnis nur mit großer Zurückhaltung gezogen werden. Abgesehen davon, daß die Gruppen nicht sehr viele Tiere umfaßten, hätte das Ergebnis nur für eine Infektion bei einer Tiergattung Geltung. Immerhin ist das gleichmäßige günstige Verhalten der Eiweißtiere gegenüber den Kohlenhydrattieren von Interesse[2]). Langstein hat kürzlich auf Grund klinischer Untersuchungen hervorgehoben, daß vorwiegende Eiweißernährung bei Infektionen der Säuglinge, insbesondere bei Tuberkulose, von günstiger Wirkung ist. In weiteren Experimenten wird zurzeit die Wirkung einer Infektion auf vorher verschieden genährte Tiere auch in chemischer Hinsicht verfolgt.

Bemerkungen zu den Tabellen.

1. Fütterung der Kohlenhydrattiere. Die Besorgnis, durch starke Anreicherung mit Zucker Durchfälle hervorzurufen, war der Grund zur Darreichung eines zweiten Kohlenhydrats, der Kartoffel. Die Kar-

[1]) Siehe Tabelle am Schluß der Arbeit.

[2]) Wenn man auch annehmen könnte, daß die Isolierung eines Tieres von vornherein nachteilig wirken kann (geringere gegenseitige Erwärmung usw.), so dürfte es jedoch nicht die ausreichende Erklärung bilden.

toffel durfte indessen wegen ihres hohen Wassergehaltes nicht einfach demselben Halbmilchquantum, wie es die anderen Gruppen erhielten, hinzugefügt werden. Vielmehr mußte die ungefähre, in den Kartoffeln enthaltene Wassermenge davon subtrahiert werden. In 500 g Kartoffeln wurden 400 g Wasser angenommen. Deshalb erhielten die 4 Kohlenhydrattiere nicht pro Tag 10 l, sondern 9,6 l Halbmilch. Durch diesen Abzug wären aber die Calorien vermindert worden (um 140). Infolgedessen mußten sie durch Zucker ersetzt werden (35 g-140 Cal.). Der gesamte Zuckerzusatz bestand also aus diesen 35 g + dem jeweils geänderten eigentlichen Anreicherungszucker. Dies war auch zu berücksichtigen bei der Berechnung des prozentigen Anteils der Anreicherungscalorien (Tabelle III), sowie bei der Addition der Anreicherungscalorien (Tabelle IV).

Man könnte nun meinen, daß den Kohlenhydrattieren diejenigen Mengen von Eiweiß, Fett und Salzen entgangen seien, die in den weggelassenen 400 g Halbmilch pro Gruppe und Tag enthalten gewesen wären. Dies ist nur teilweise der Fall. Eiweiß ist in Kartoffel und Halbmilch ungefähr in derselben Menge vorhanden, und das pflanzliche Eiweiß ist für das Schwein ohne Zweifel ebenso gut ausnutzbar wie das tierische. Im Gehalt an Aschebestandteilen besteht ebenfalls keine wesentliche Differenz, nur bezüglich des Fettes, da die in der Kartoffel enthaltenen minimalen Mengen nicht in Betracht zu ziehen sind. Jedem Tiere entging täglich diejenige Fettmenge, die in 100 g Halbmilch enthalten ist, also 1,7 g, die wohl calorisch, aber nicht als Fett in Aktion trat. Die Menge ist indessen so gering, daß sie mit Recht vernachlässigt wurde.

2. Bemerkungen zur Gewichtstabelle. Die gleichmäßigste Gesamtzunahme zeigen die Eiweißgruppen (infizierte 142,9, nicht infizierte 140,3%). In einem eigentümlichen Verhältnis stehen die Zunahmen der nicht infizierten Fett- und Kohlenhydratgruppe zu denen der infizierten:

Nicht infizierte Fettgruppe	116,8%
Nicht infizierte Kohlenhydratgruppe .	124,7%
Infizierte Fettgruppe	170,7%
Infizierte Kohlenhydratgruppe . . .	179,7%.

Demnach haben die infizierten Gruppen stärker zugenommen als die nicht infizierten. Dies ist aber nur aus dem vorhergehend angeführten Grunde verständlich, daß bei der nicht infizierten Fett- und Kohlenhydratgruppe je ein konstitutionell minderwertiges Tier den Durchschnitt herabdrückte. Vergleicht man die Zunahme der verschiedenen Hauptgruppen (infizierte und nichtinfizierte Tiere), so ergibt sich eine gute Übereinstimmung, entsprechend der quantitativen Fütterung. Am besten zugenommen haben die gemischt genährten Tiere, von den spezifisch ernährten die Kohlenhydrattiere.

3. Bemerkung zu Tabelle III. Entsprechend dem mit dem Alter sinkenden Energiekoeffizient gingen die Gesamtcalorien pro Kilogramm etwas zurück.

Tabelle II.

	Nr.	Gewicht bei Beginn der Vorperiode	28 Tage: Gewicht bei Beginn der Übergangsperiode	28 Tage: Zunahme des Körpergewichtes %	28 Tage: Tägl. Zunahme während der Vorperiode %	10 Tage: Gewicht bei Beginn der Hauptperiode	10 Tage: Zunahme des Körpergewichtes %	10 Tage: Tägl. Zunahme während d. Übergangsperiode %	25 Tage: Gewicht am Schluß der Hauptperiode I	25 Tage: Zunahme während der Hauptperiode I %	25 Tage: Tägl. Zunahme in der Hauptperiode I %	24 Tage: Gewicht am Schluß der Hauptperiode II	24 Tage: Zunahme während der Hauptperiode II %	24 Tage: Tägl. Zunahme in der Hauptperiode II %	Gesamtzunahme %
Fett	314	8270	12550	51,7	1,85	14300	13,9	1,39	16300	14,0	0,56	20200	23,9	0,99	144,0
Nicht infiziert	328	6220	8700	39,9	1,42	9600	10,3	1,03	11000	14,6	0,58	11800	7,3	0,30	89,7
															143,7
Fett	306	4930	9800	99,0	3,58	10700	9,2	0,92	12800	19,6	0,78	16500	29,0	1,20	234,7
Infiziert	312	7620	11400	49,5	1,76	12200	7,0	0,7	14200	16,4	0,62	15750	10,9	0,53	106,7
															170,7
Kohlenhydrat	158	8150	12000	47,2	1,68	13600	13,3	1,33	16100	18,4	0,73	21400	32,9	1,37	162,6
Nicht infiziert	326	6050	9000	48,7	1,73	9700	7,8	0,78	10700	10,3	0,43	11300	5,6	0,23	86,8
															124,7
Kohlenhydrat	80	5530	10200	84,4	3,01	11700	14,7	1,47	14200	21,4	0,85	17100	20,4	0,85	209,2
Infiziert	59	7210	11700	62,2	2,22	13200	12,8	1,28	15200	15,1	0,60	18050	18,7	0,77	150,3
															179,7
Eiweiß	265	7500	11500	53,3	1,92	13100	13,9	1,39	15600	19,1	0,76	19500	25,0	1,05	160,0
Nicht infiziert	157	8500	11150	31,1	1,11	12200	9,4	0,94	15000	22,9	0,91	18750	25,0	1,05	120,5
															140,3
Eiweiß	323	7600	11150	46,7	1,66	12500	12,1	1,21	14700	17,6	0,71	17400	18,3	0,76	128,9
Infiziert	278	7200	10900	51,4	1,83	12500	14,7	1,47	14200	13,6	0,54	18500	30,3	1,26	156,9
															142,9
Gemischt	296	6500	11400	75,4	2,69	12900	18,2	1,32	15900	23,3	0,93	19900	25,2	1,01	206,2
Nicht infiziert	275	6410	9800	53,0	1,89	10600	8,2	0,82	12100	14,1	0,56	15800	30,6	1,22	146,5
															176,8
Gemischt	322	7300	11000	50,7	1,81	12500	13,6	1,36	14900	19,2	0,76	19050	27,8	1,15	160,9
Infiziert															

Literatur.

Feser, Milzbrandinfektionsversuche mit Ratten bei verschiedener Ernährungsweise. Adams Wochenschr. 1879, S. 105 (Lubarsch).

König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel 1, Berlin 1903.

Langstein, Welche Aufgaben stellen die Infektionen im Säuglingsalter der Diätetik? Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Infektion und Ernährung mit besonderer Berücksichtigung der Säuglingstuberkulose. Zeitschr. f. Kinderheilk. 7, 1913.

Lubarsch, Infektionswege und Krankheitsdispositon. Erg. von Lubarsch-Ostertag 1, 1896.

K. Müller, Der Milzbrand der Ratten. Fortschr. d. Med. 1893.

Strauss, Le charbon. Paris 1887. (Lubarsch.)

Weigert, Über den Einfluß der Ernährung auf die Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 38.

Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung.

II. Mitteilung.

Von

O. Hornemann.

(Aus dem Kaiserin Auguste Victoria-Haus zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit im Deutschen Reiche.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1913.)

In der I. Mitteilung wurde von E. Thomas als Zweck dieser Arbeiten die Feststellung des Einflusses einer verschiedenartigen Ernährung auf den Verlauf einer experimentell erzeugten tuberkulösen Infektion bei Ferkeln festgestellt. Die Tiere wurden nach einer für alle gleichmäßigen Vorperiode gruppenweise mit einer fett-, kohlenhydrat- und eiweißreichen Nahrung derartig gefüttert, daß isodyname Mengen der Zusatzstoffe zunächst in geringerem, später in immer stärkerem Prozentsatz einer Grundnahrung (als solche dienten gleiche Mengen Halbmilch) zugesetzt wurden. Als Anreicherungsstoffe wurden Palmin, Zucker — Weizenmehl und säuregefälltes Kasein verwendet. Näheres s. I. Mitteilung.

Wie die Ernährung, so wurde auch die Infektion in möglichst quantitativen Verhältnissen ausgeführt. Sie erfolgte am 30. April 1913 subcutan, 2 Tage vor dem Umsetzen auf die Anreicherungskost. Es wurde eine 3 Wochen alte Kultur eines Rindertuberkelbacillenstammes benutzt, der von Herrn Regierungsrat Tietze vom Kaiserlichen Gesundheitsamt in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurde. Nach Angaben des Gesundheitsamtes sollte 0,5 mg dieses Stammes, Ferkeln subcutan injiziert, eine allgemeine Tuberkulose hervorrufen, der die Tiere in etwa 4 bis 5 Wochen erliegen. Zwecks Erlangung gleicher Versuchsbedingungen wurden nun den einzelnen Tieren auf das

Körpergewicht berechnete Dosen eingespritzt. Dazu wurde zunächst das Durchschnittsgewicht der 7 zu infizierenden Ferkel festgestellt; es betrug 11750 g. Für dieses Gewicht wurde als Infektionsdosis die vom Gesundheitsamt angegebene Menge von 0,5 mg gewählt. Je nach der Lage des Gewichtes der einzelnen Tiere über oder unter dem Durchschnitt wurde ein Geringes mehr oder weniger injiziert.

Folgende Tabelle erläutert das Vorgehen.

Tabelle I.

Nr. des Versuchstieres	Art der Fütterung	Gewichte der vorletzten Wägung g	Gewichte der letzten Wägung g	Durchschnittsgewicht nach der letzten Wägung g	Infektionsdosis mg
312	Fettanreicherung	11 600	11 900		0,51
306	Fettanreicherung	10 300	10 350		0,44
80	Kohlenhydratanreicherung	10 500	11 300		0,46 [1]
59	Kohlenhydratanreicherung	12 000	12 700	11 750	0,53 [1]
323	Eiweißanreicherung	11 650	11 950		0,51
278	Eiweißanreicherung	11 700	12 200		0,52
322	Gemischte Nahrung	11 200	11 850		0,49 [1]

Die Aufschwemmung geschah in physiologischer Kochsalzlösung. Als Infektionsstelle wurde, wie üblich bei Schweinen, die Gegend zwischen der rechten 3. und 4. Rippe, etwa 4 Finger breit unterhalb des Widerristes gewählt.

Bei diesen quantitativen Ernährungs- und Infektionsbedingungen interessierten nun ganz besonders folgende Fragen in serologischer Beziehung:

[1]) Schwein 80 erhielt 0,02 mg, Schwein 59 und 322 je 0,01 mg weniger injiziert als ihnen nach dem Gewicht der letzten Wägung zustand, weil die auffallend großen Gewichtszunahmen dieser Tiere seit der vorletzten Wägung nicht nur auf Ansatz, sondern auch auf Urin- bzw. Kotretention zurückgeführt wurden.

1. Besteht eine Resistenzverschiedenheit der einzelnen Tiere gegenüber der tuberkulösen Infektion, die dann ihren Ausdruck in einem zeitlich verschiedenen Ausbruch der Krankheit finden müßte?

2. Besteht als mutmaßliche Folge der verschiedenartigen Ernährung ein schon frühzeitig erkennbarer Unterschied in dem Verlauf der Krankheit?

3. Bestehen Differenzen im Komplementgehalt des Serums der Tiere?

4. Wie verhalten sich die Tiere bezüglich der spezifischen Antikörper?

Zur Beantwortung der beiden ersten Fragen wurde die von Römer-Marburg für Rinder ausprobierte Intracutanprüfung mit bovinem Tuberkulin herangezogen. Als Maßstab für die spezifischen Abwehrkräfte der Tiere benutzte ich den an verschiedenen Tagen bestimmten tuberkulo-phagozytischen Index.

Soweit ich die Literatur übersehe, sind ähnliche Untersuchungen unter solch quantitativen Bedingungen noch niemals gemacht worden. Die einzige Arbeit, die hier genannt werden könnte, ist die von P. Th. Müller[1]) aus dem Jahre 1904. Der Autor verfütterte an eine Gruppe von Tauben eine eiweiß- und fettreiche, an eine andere Gruppe eine kohlenhydratreiche Nahrung, immunisierte sie mit abgetöteten Pyocyaneus- und Proteuskulturen und untersuchte den Agglutiningehalt ihrer Seren. Er fand, daß die Fütterung auf die Immunisierung gegen Proteus keinen mit Sicherheit konstatierbaren Einfluß, dagegen einen deutlichen auf die Immunisierung gegen Pyocyaneus ausgeübt hatte. In diesem Falle hatten die mit Eiweiß- und Fettanreicherung gefütterten Tiere $7^1/_2$ mal soviel Agglutinin gebildet wie die anderen Tiere[2]).

---

[1]) Arch. f. Hygiene **51**, 365.

[2]) Anmerkung bei der Korrektur. Heft 7 des 12. Bandes der Monatsschr. f. Kinderheilk. enthält eine Arbeit von Kleinschmidt „Ernährung und Antikörperbildung", in der mitgeteilt wird, daß bei jungen Hunden, die mit einer extrem fett- bzw. kohlenhydratangereicherten Kost gefüttert wurden, im Vergleich zu solchen mit gemischter Nahrung kein nennenswerter Unterschied in der Hämolysinbildung (Hammelblut), der Agglutinin- und Bakteriolysinproduktion (Typhus) besteht.

Die erste Intracutanprüfung geschah 23 Tage nach der Infektion, am 23. Mai. 0,06 ccm des Tuberkulins, in 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, wurden den infizierten und zwei nicht infizierten Tieren in die Haut zwischen den vorderen Brustwarzen eingespritzt. Tabelle II gibt über den Ausfall der Reaktion Auskunft.

Tabelle II.

Nr. des Versuchstieres	Art der Nahrung	Größe der Prüfungsdosis	Späterer Sektionsbefund	Befund an der Injektionsstelle am:		
				24. Mai	25. Mai	26. Mai
312	Fettanreicherung	0,2 ccm einer 30%igen Tuberkulinlösung	stark	Geringe Rötung an der Einstichstelle.	Flache undeutliche Papel. Injektionsstelle hämorrhagisch. Geringer roter Hof.	Blasse Papel mit $1^1/_2$ cm breitem rötlichen Hof.
306	do.	do.	schwach	do.	Flache Papel, 1 cm Durchmesser. Geringer roter Hof. Injektionsstelle leicht hämorrhagisch.	Stichstelle noch hämorrhagisch, deutlich infiltriert, mit geringem rötlichen Hof.
80	Kohlenhydratanreicherung.	do.	stark	Etwa 3 cm breite, etwas erhöhte Schwellung, innen weiß mit rotem Hof.	Flache Papel mit teigiger Infiltration ohne besondere Rötung.	Noch geringe Rötung und Schwellung an der Impfstelle, 1,5 cm im Durchmesser.
59	do.	do.	do.	do.	Derbe Papel mit $1^1/_2$ cm im Durchmesser und deutlichem roten Hof.	Noch deutliche Schwellung und Infiltration.
323	Eiweißanreicherung.	do.	schwach	Sehr starke Reaktion, derbes weißes Infiltrat mit 3:4 cm im Durchmesser, darum rötlicher Hof.	3 cm breite, livide Zone mit starker, weißer Umgebung, darum rötlicher Hof. Das Ganze $5^1/_2$ cm breit.	Injektionsstelle etwas hämorrhagisch, auch weißliche 3 bis 4 cm breite Schwellung mit geringem rötlichen Hof.
278	do.	do.	do.	Spur von Infiltration mit sehr geringer Rötung.	Starke Rötung mit Infiltration $1^1/_2 : 1^1/_2$ cm.	Noch infiltrierte Papel von 2 cm Durchmesser mit geringer Rötung.
322	Gemischte Nahrung.	do.	stark	Sehr starke Reaktion, 2,5 bis 4 cm im Durchmesser. Kokardenform.	Zentrale livide Stelle mit weißer Umgebung. Das Ganze 4:4 cm.	Deutliches Infiltrat, diffuse weißliche Schwellung mit undeutlichem rötlichen Hof.

Tabelle III.

Nr. des Versuchstieres	Art der Nahrung	Späterer Sektions-Befund	Injektionsstellen und Größe der Prüfungsdosis	Befund an den Injektionsstellen am 7. Juni	8. Juni	9. Juni
312	Fett-anreicherung	stark	I. Bauchhaut: a) vorn 0,03 ccm b) Mitte 0,004 ccm c) hinten 0,0008 ccm, sämtlich in 0,2 ccm physiolog. Kochsalzlösung gelöst. II. Haut an der Schwanzwurzel: a) links 0,03 ccm b) Mitte 0,004 ccm c) rechts 0,0008 ccm, sämtlich ebenfalls in 0,2 ccm physiolog. Kochsalzlösung gelöst. (II a, b u. c nur bei Schwein 323 ausgeführt, sonst nur IIb).	I. a) Entzündliche Papel, 1 cm breit. b) Rötung der Einstichstelle ohne Infiltration. c) desgl. II. b) ±	I. a) Livide Verfärbung, 1:1 cm mit Infiltration und rotem Hof. I. b) und c) 0. II. b) Geringe Rötung u. Infiltration (r i).	I. a) Infiltration mit geringer Rötung. b) Spur Infiltration. c) 0. II. b) Geringe Infiltration.
306	do.	schwach		I. a) Teigige Papel mit fleckiger Rötung, 2 cm. b) Um die Einstichöffnung weißliches Zentrum mit geröteter Umgebung, 1—2 cm. c) Diffuse Rötung um die Einstichstelle. I. a—c) deutlich graduell abgestuft. II. b) Deutliche Rötung mit geringer Infiltration.	I. a) Infiltration und Rötung 2:3 cm. b) Geringe Rötung und Infiltration. c) 0,5:0,5 cm breite Rötung und Infiltration. II. b) Rötung u. Infiltration 3:2,5 cm.	I. a) Infiltration 3:2 cm, Rötung 0,5:0,5 cm. b) Geringe Rötung. c) Desgl. II. b) Rötung und Infiltration 3:2 cm. An der Einstichstelle Schorf.
80	Kohlenhydrat-anreicherung	stark		I. a—c) ± II. b) Deutliche infiltrierte Papel.	I. a) Teigige Schwellung 5:4 cm. Rötung im Zentrum 2:1,5 cm. b) Rötung u. Infiltration 2:1,5 cm. c) Fast ebenso wie bei b). II. b) Traumatisch.	I. a) Geringe Infiltration. b) und c) 0. II. b) An der Einstichstelle 2,5:2 cm großer Schorf.
59	do.	do.		I. a) Geringe Rötung. b) Spur Rötung. c) 0. II. b) Geringe Rötung und Infiltration an der Injektionsstelle.	I. a) Teigige, erhabene Schwellung ohne Rötung 5:4 cm. b) Infiltrat 3:1,5 cm. c) Ganz geringes Infiltrat. II. b) Geringe Rötung an der Injektionsstelle.	I. a) Infiltration 3,5:3 cm ohne Rötung. b) Infiltration 2:1 cm. c) 0. II. b) ±
323	Eiweiß-anreicherung	schwach		I. a) Geringe weißliche Verfärbung. b) Etwas Rötung. c) Geringe Rötung und Infiltration. II. a—c) 0.	I. a) Geringe Schwellung 3:2,5 cm mit leichter Rötung. b) Geringe Schwellung 2:1,5 cm. c) Ganz geringe Rötung. II. a) Rötung u. Schwellung 4:3 cm. b) Rötung u. Schwellung 2,5:1,5 cm. c) 0.	I. a) Geringe Rötung. b) Desgl. mit geringer Infiltration. c) 0. II. a) Rötung und Infiltration. b) Desgl. c) 0.
278	do.	do.		I. a—c) Geringe Rötung. II. b) 0.	I. a) Geringe Rötung und Infiltration. b) Desgl. c) Desgl. II. b) Infiltration 3:2,5 cm mit Rötung im Zentrum 0,5:0,5 cm.	I. a) Geringe Infiltration. b) und c) 0. II. b) Geringe Infiltration.

Tabelle III (Fortsetzung).

Nr. des Versuchstieres	Art der Nahrung	Späterer Sektions-Befund	Injektionsstellen und Größe der Prüfungsdosis	Befund an den Injektionsstellen am		
				7. Juni	8. Juni	9. Juni
322	Gemischte Nahrung	stark		Nirgends etwas Deutliches.	I. a) Teigige Schwellung 5:4 cm, geringe Rötung. b) Geringe Infiltration ohne Rötung. c) Desgl. II. b) Infiltration 5:5 cm. Rötung scharf abgegrenzt, 2,5:2 cm.	I. a) Geringe Infiltration. b) Desgl. c) 0. II. b) Geringe Infiltration.

Leider war der Prüfungstermin zur Feststellung des Beginns der Erkrankungen zu spät gewählt, denn alle Tiere zeigten durch die positive Reaktion an, daß sie bereits unter dem Einfluß des tuberkulösen Virus standen. Deutliche Unterschiede in der Stärke der Reaktionen waren ebenfalls nicht erkennbar.

Die Kontrolltiere ließen nur am 1. Tage nach der Injektion ein ganz geringes Infiltrat an der Einstichstelle, aber keine entzündliche Rötung erkennen.

Bei einer weiteren intracutanen Injektion von 0,0006 ccm Tuberkulin am 31. Mai wurden bei Tier 312, 306 und 278 deutliche, bei 323 zweifelhafte und bei den übrigen Tieren negative Reaktionen beobachtet.

Es lag nun im Bereich der Möglichkeit, daß die Prüfungsdosis von 0,06 ccm zur Feststellung der Ausdehnung der Erkrankungen zu stark, 0,0006 ccm dagegen zu schwach war. Es wurden deshalb am 6. Juni jedem Tier drei verschieden starke Prüfungsdosen in die Bauchhaut injiziert, und zwar 0,03, 0,004 und 0,0008 ccm. Die mittlere Dosis erhielten die Tiere außerdem in die Haut an der Schwanzwurzel, Tier 323 alle drei Dosen in diese Stelle. Tabelle III enthält die Ergebnisse dieser Prüfung.

Auch hier zeigten alle Tiere annähernd gleichstarke Reaktionen. Ebenso bestand kein wesentlicher Unterschied zwischen den Reaktionen der Bauchhaut und der Haut an der Schwanzwurzel.

Die Kontrolltiere ließen am 1. Tage nach der Injektion eine leichte Rötung um die Einstichstelle erkennen, die jedoch am 2. Tage vollständig verschwunden war.

Ein etwas anderes Resultat hatte eine weitere Prüfung mit

0,1 ccm Tuberkulin am 18. Juni: bei den Kohlenhydrattieren stärkere Reaktion, auffallend geringe Reaktion bei dem gemischt genährten Tier und dem Eiweißtier 278, während die übrigen Tiere annähernd gleich reagierten. Diese Resultate gibt Tabelle IV wieder.

Tabelle IV.

Nr. des Versuchstieres	Art der Nahrung	Größe der Prüfungsdosis	Späterer Sektionsbefund	Befund an der Injektionsstelle am		
				19. Juni	20. Juni	21. Juni
312	Fettanreicherung	0,1 ccm Tuberkulin	stark	Flaches, offenbar traumatisches Infiltrat mit Blutaustritt. Rötung etwas exzentrisch. Ausdehnung: 2 : 3 cm.	Erhabenes Infiltrat 1 : 1 cm, Nekrose in der Mitte.	Infiltrat 2 : 2 cm, nicht so derb wie bei 306.
306	do.	do.	schwach	Infiltration 2 : 3 cm.	Derbes, blaurotes Infiltrat 1,5 : 2 cm, kleine Nekrose an der Einstichstelle.	Derbes Infiltrat 2 : 2 cm; an der Einstichstelle Rötung mit kleinem Blutaustritt.
80	Kohlenhydratanreicherung	do.	stark	Große Infiltration, etwas hämorrhagisch.	Starke Infiltration 4 : 4 cm, darum roter Hof; in der Mitte Hämorrhagie.	Derbe Infiltration 4 : 4 cm; an der Injektionstelle 0,5 cm breite Schorfbildung.
59	do.	do.	do.	Große, hohe Infiltration von 4 : 4 cm Ausdehnung. An der Injektionsstelle geringer Blutaustritt.	Starke teigige Infiltration 4 : 4 cm, darum roter Hof; in der Mitte Hämorrhagie.	Sehr großes derbes Infiltrat 5 : 5 cm.
323	Eiweißanreicherung	do.	schwach	Undeutliche Infiltration 5 : 4 cm. An der Injektionsstelle kleiner Blutaustritt.	Weiße hohe Quaddel 1,5 : 1,5 cm, darum roter Hof.	Infiltration 1 : 1 cm, etwas livide.
278	do.	do.	do.	Kleine hämorrhagische Stelle an der Einstichöffnung mit Infiltration.	—	Kleines Infiltrat mit Spur Rötung.
322	Gemischte Nahrung	.	stark	Kleine Infiltration 0,5 : 0,5 cm mit Blutaustritt.	Deutliche Infiltration 1 : 1 cm mit hämorrhagischer Einstichstelle.	Spur Infiltration mit kleinem Schorf.

Die Kontrolltiere reagierten negativ.

Wenn der Intracutanprüfung die Fähigkeit der Feststellung eines Unterschiedes in der Ausbreitung der Erkrankung zuzuerkennen war, so mußten die Kohlenhydrattiere am stärksten, das Eiweißtier 278 und das gemischt genährte Tier als am wenigsten erkrankt angesehen werden. Ein Blick auf die Sektionsprotokolle besagt, daß die Diagnose bei den Kohlenhydrattieren und dem Eiweißtier 278 stimmte, aber nicht bei dem gemischt genährten Tier. Deshalb mußte ich zu der Überzeugung kommen, daß die Intracutanprüfung bei Schweinen zu der Erkennung tuberkulöser Erkrankungen mit Erfolg herangezogen werden kann, daß sie aber versagt, wenn es gilt, über den Grad der Ausdehnung derselben Aufschluß zu erhalten.

Die Komplementbestimmung gestaltete sich ziemlich schwierig. Nachdem nämlich durch Vorversuche festgestellt war, daß die lösende Fähigkeit des Ferkelserums Hammelblut gegenüber zumeist auf dem verhältnismäßig großen Gehalt desselben an Amboceptoren beruht, war die übliche Austitrierung des Komplements in diesen Versuchen nicht anwendbar. Es mußte deshalb jeder Bestimmung eine Trennung desselben von den Amboceptoren in der Kälte vorausgehen. Als Testlösung diente 1 ccm einer 5%igen Hammelerythrocytenaufschwemmung. Im einzelnen gestaltete sich die Methodik folgendermaßen:

Die 20fache Menge der komplettlösenden Dosis des eisgekühlten Ferkelserums wurde in einem Zentrifugenglase mit 5 ccm einer ebenfalls eisgekühlten 20%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung (= 20 ccm einer 5%igen; die Verwendung einer 20%igen Aufschwemmung geschah zur Vermeidung eines zu großen Flüssigkeitsvolumens) gemischt und 3 Stunden im Eis aufbewahrt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Mischung in Eispackung zentrifugiert und die überstehende farblose Flüssigkeit von den sedimentierten Blutkörperchen abgesaugt. Nach gelungener Trennung enthielt der Abguß das Komplement, während die Amboceptoren sich an die Hammelblutkörperchen fixiert hatten. Zur Kontrolle der stattgehabten Trennung wurde einmal eine bestimmte Menge des Abgusses, die der komplettlösendenden Dosis des Serums entsprach, mit der Testlösung gemischt und dann eine bestimmte Menge des Sediments mit NaCl-Lösung aufgefüllt; beide Kontrollen kamen für 2 Stunden in den Brutschrank von 37°. Nach gelungener Trennung mußte in beiden Röhrchen die Hämolyse ausbleiben.

Zur Auswertung des in dem Abgusse befindlichen Komplements wurden nun fallende Mengen des Abgusses mit der Testlösung und der

10 fachen komplettlösenden Dosis eines vom Kaninchen gewonnenen hämolytischen Amboceptors gemischt, auf das Volumen von 3 ccm aufgefüllt und für 2 Stunden in den Brutschrank gebracht. Nach Ablauf dieser Zeit wurde dann die Dosis des Abgusses bestimmt, die eine komplette Lösung der Testlösung herbeiführte und daraus die in derselben enthaltene Komplementmenge durch Berechnung ermittelt.

Die Blutentnahme erfolgte für alle Versuche zur gleichen Tageszeit, nämlich zwischen 3 und 4 Uhr nachmittags. Zur Untersuchung kam das Serum dann am folgenden Tage, nachdem es die Nacht über im Eisschrank gestanden hatte.

Bei den infizierten Tieren wurden Bestimmungen am 23. V., 28. V., 3. VI., 7. VI., 13. VI., 19. VI. und 24. bzw. 25. VI., bei den Kontrolltieren am 7. VI., 13. VI., 19. VI. und 26. VI. 1913 vorgenommen. Das Resultat enthält Tabelle V.

Tabelle V.

Tag der Untersuchung	Schwein Nr.										
	312	306	80	59	323	278	322	156	158	296	314
23. V.	0,28	—[1])	0,14	0,143	0,20	0,10	0,24				
28. V.	0,29	0,2	0,20	0,20	0,23	0,24	0,16				
3. VI.	—[1])	0,116	0,107	0,186	0,187	0,21	0,139				
7. VI.	0,333	—[1])	0,151	0,288	0,375	0,169	0,19	0,156	0,227	0,238	0,268
13. VI.	0,3	—[1])	0,146	—[1])	0,146	—[1])	0,15	0,080	0,146	0,097	—
19. VI.	—[1])	0,118	0,146	0,146	0,119	0,097	0,171	0,109	0,146	0,078	0,255
24. VI.	0,13	0,09	—	—	—	—	0,128				
25. VI.	—	—	0,133	—[1])	0,229	0,156	—				
26. VI.	—	—	—	—	—	—	—	0,13	0,109	0,092	0,304

Die Tabelle zeigt zwar Schwankungen im Komplementgehalt an; sie sind aber geringfügiger Natur. Zudem traten sie bei allen Tieren, den infizierten wie nichtinfizierten, den fett-, kohlenhydrat-, eiweiß- und gemischt genährten in annähernd gleicher Intensität auf, so daß sich irgendwelche Schlußfolgerungen daraus nicht ziehen lassen.

Die Methodik zur Bestimmung der opsonischen Kraft der Seren entsprach im wesentlichen der von Wright geübten.

Für die Bakterienemulsion wurden getrocknete Rindertuberkelbacillen (Tuberkulinrückstände, Höchst) benutzt: 0,1 g davon wurden im

[1]) Trennung nicht gelungen.

Achatmörser längere Zeit verrieben und mit 1,5%iger Kochsalzlösung (um Spontanphagocytose zu vermeiden) ganz allmählich zu einer feinen Emulsion verwandelt. In einem zugeschmolzenen, sterilen Reagensglas wurde dann die auf 10 ccm aufgefüllte Aufschwemmung 1 Stunde lang bei 70° sterilisiert und 24 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt. Nach dem Absitzenlassen der gröberen Partikelchen durch 1tägiges Stehenlassen der Emulsion im Eisschrank war die obere homogene Flüssigkeit gebrauchsfertig. Zur Ermittlung der richtigen Stärke der Emulsion wurden mit verschiedenen Verdünnungen derselben gewöhnliche Phagocytoseversuche (normales Schweineserum) angestellt. Die Verdünnung mit einem phagocytischen Index von 2,0 bis 2,5 wurde zur Bestimmung der Opsonine für geeignet gehalten. Aus der übrigen Emulsion wurde sodann eine solche Verdünnung hergestellt und letztere zu je 1 ccm in Gläschen gefüllt, die dann zugeschmolzen und noch einmal 1 Stunde bei 70° sterilisiert wurden. Für jeden Opsoninversuch wurde der Inhalt eines solchen Röhrchens benutzt.

Die anfängliche Absicht, Exsudatleukocyten des Meerschweinchens zu verwenden, mußte aufgegeben werden, nachdem in vielfachen Voruntersuchungen festgestellt war, daß dieselben unter dem Einfluß des Ferkelserums erheblich, teilweise sogar gänzlich ihre Freßfähigkeit einbüßten. Offenbar sind in dem Ferkelserum auf die Leukocyten des Meerschweinchens toxisch wirkende Stoffe vorhanden (Leukocytotoxine). Ein weiterer Grund für die Nichtverwendung von Exsudatleukocyten des Meerschweinchens lag in der Beobachtung, daß beim Waschen eine Verklumpung derselben trotz Einhaltung aller erdenklichen Vorsichtsmaßregeln nur selten vermieden werden konnte. Es wurden deshalb prinzipiell Schweineleukocyten benutzt, die von einem nicht infizierten Tier aus der Ohrvene jedesmal am Tage der Serumgewinnung in der üblichen Weise erhalten wurden. Nur in einem Punkt mußte eine Abweichung eintreten. Während fast allgemein die Leukocyten vor ihrer Verwendung vorsichtig und gleichmäßig mit den darunter liegenden roten Blutkörperchen gemischt wurden, mußte in diesen Versuchen von dieser bewährten Methode leider abgesehen werden; es gelang nämlich so niemals eine genügende Menge polymorphkerniger Leukocyten in einem Präparat zu erhalten. Es lag das nach meinen Beobachtungen offenbar daran, daß das Ferkelblut verhältnismäßig arm an diesen Zellen ist; dagegen waren die Mononukleären stets in genügender Menge vorvorhanden. Die Leukocytendecke mußte deshalb direkt in die Capillare eingesaugt werden, wobei es mehr oder weniger dem Zufall überlassen bleiben mußte, ob annähernd gleiche Mengen Leukocyten aufgesaugt wurden. Bei der späteren Auszählung wurden jedoch nur solche Präparate verwendet, in denen schätzungsweise eine annähernd gleiche Leukocytenzahl vorhanden war.

Die Mischung von Bakterienaufschwemmung, Leukocytenemulsion und Serum erfolgte wie üblich in der Wrightschen Capillare, wobei darauf geachtet wurde, daß nur solche von annähernd gleicher Weite benutzt wurden. Zwecks Erhaltung der gleichmäßigen Mischung wurden

die Capillaren während ihres 25 Minuten dauernden Aufenthaltes im Brutschrank an einer rotierenden Scheibe in ständiger Bewegung erhalten. Danach wurde der Inhalt nochmals in der üblichen Weise gemischt und bestimmte Teile desselben auf peinlichst gesäuberte Objektträger mit dem Verteiler ausgestrichen. Die Fixierung geschah in Alkohol und Äther āā.

Zur Färbung benutzten wir die von Reiter[1]) angegebene Methode: Aufgießen von heißem Carbolfuchsin, 3 Minuten einwirken lassen desselben, Entfärben in 2,5 %iger Schwefelsäure, Nachfärben mit verdünntem Löfflerblau.

Unter Einhaltung dieser Methodik wurde jeder Versuch doppelt ausgeführt, indem zwei Personen unabhängig voneinander arbeiteten. Die Auszählung geschah ebenfalls von den beiden Untersuchern unabhängig voneinander. In der Regel wurden von jedem Untersucher 100, bei Differenzen bis zu 200 Leukocyten, im ganzen also mindestens 200, nötigenfalls bis zu 400 ausgezählt. Es wurde nur der phagocytische Index berechnet.

Eine Beobachtung möchte ich noch besonders hervorheben: in einer Reihe von Präparaten zeigte sich seltsamerweise eine mehr oder weniger hochgradige Verklumpung der Leukocyten, eine Erscheinung, der man bei Verwendung von Blutleukocyten des Menschen oder des Meerschweinchens mit dem homologen Serum in so ausgesprochener Weise niemals begegnet. Die Neigung zur Verklumpung ist deshalb wohl als eine Eigentümlichkeit der Ferkelleukocyten anzusehen. Präparate mit einer stärkeren Verklumpung der Leukocyten wurden von der Verwertung ausgeschlossen, und in solchen mit weniger ausgesprochener Verklebung derselben nur die freiliegenden Leukocyten gezählt.

Es braucht kaum betont zu werden, daß angesichts dieser Schwierigkeiten auf die Auffindung sehr kleiner Differenzen in der opsonischen Kraft der Seren verzichtet werden mußte, und daß nur größere Ausschläge nach der einen oder anderen Richtung hin verwertbar sind. Unter diesem Gesichtswinkel sind auch die Folgerungen zu verstehen, die ich aus den festgestellten Indizes zu ziehen mich für berechtigt halte.

Die Indizes sind, tabellarisch geordnet, folgende:

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. **1910**, 2426.

Tabelle VI.

Schwein Nr.	Art der Nahrung	Untersuchungstage					
		23. V.	28. V.	3. VI.	7. VI.	13. VI.	19. VI.
312	Fett-anreicherung	2,7	2,8	3,2	—	—	—
306	Fett-anreicherung	3,3	4,0	4,1	4,1	—	—
80	Kohlenhydrat-anreicherung	2,0	2,1	3,9	1,1	2,8	—
59	Kohlenhydrat-anreicherung	1,2	1,6	4,3	2,6	—	—
323	Eiweiß-anreicherung	3,3	2,7	3,7	3,1	—	—
278	Eiweiß-anreicherung	3,2	2,0	3,2	4,8	2,3	—
322	Gemischte Nahrung	2,6	2,6	4,6	1,8	—	—
314	Fett-anreicherung	—	—	—	1,7	—	1,6
158	Kohlenhydrat-anreicherung	—	—	—	1,7	1,6	1,6
156	Eiweiß-anreicherung	—	—	—	1,7	1,6	1,5
296	Gemischte Nahrung	—	—	—	—	1,5	1,6

Aus der Tabelle geht zunächst hervor, daß die Indizes der nicht infizierten Tiere in sehr engen Grenzen schwankten. Damit hat es den Anschein, als ob die verschiedenartige Ernährung auf die opsonische Kraft der Sera keinen nennenswerten Einfluß ausgeübt hat. Weiter ist bemerkenswert, daß die Indizes der infizierten Tiere (mit Ausnahme der Tiere 80 am 7. VI. und 59 am 23. V.) als über der Norm befindlich festgestellt wurden. Ausgesprochene und regelmäßige Unterschiede in der Höhe der Indizes der infizierten Tiere ergaben sich nicht.

In welchem Sinne können nun diese Befunde gedeutet werden? Einmal ist es möglich, daß an dem Zustandekommen der durch die Sektion festgestellten Unterschiede in dem Grade der Erkrankung die spezifischen Antikörper allgemein nur nebensächlich beteiligt waren, daß vielmehr in erster Linie ganz

andere unter dem Einfluß der besonderen Ernährung wirkende Abwehrkräfte wirksam waren. Dann ist aber noch eine andere Möglichkeit vorhanden. Durch Untersuchungen von Neißer und Guerrini[1]) für Staphylokokken- und von Böhme[2]) für die Tuberkuloseantikörper des Menschen ist nämlich erwiesen, daß man, wenn nach dem Inaktivieren von Seren der Gehalt an neugebildeten spezifischen phagocytären Antistoffen in abgestuften Verdünnungen bestimmt wird, zuweilen völlig andere Resultate erhält als bei Feststellung der opsonischen Kraft. Damit ist gesagt, daß durch die Bestimmung der Opsonine ein unmittelbarer und zuverlässiger Maßstab für den Gehalt eines Serums an spezifischen phagocytären Antistoffen und damit für den Immunitätszustand eines Organismus nicht gewonnen werden kann. Will man diese für den Menschen gefundenen Tatsachen auf die tuberkulösen Ferkel übertragen, so scheint mir, auch im Hinblick darauf, daß ein nennenswerter Unterschied in der Höhe der opsonischen Kraft der infizierten Tiere nicht festzustellen war, die Annahme nicht von der Hand zu weisen zu sein, daß durch die Bestimmung der Opsonine tatsächlich kein sicherer Einblick in die spezifischen Abwehrkräfte der Tiere erhalten wurde. Bei ähnlichen Versuchen in Zukunft empfiehlt sich deshalb, neben der Bestimmung der Opsonine auch die der Tropine und vielleicht auch die der komplementbindenden Substanzen vorzunehmen.

Zur Ermöglichung eines Vergleiches der serologischen Ergebnisse mit den bei der Sektion festgestellten Befunden werden im folgenden die Sektionsprotokolle ausführlich mitgeteilt. Am Schluß folgt eine tabellarische Übersicht. Die Sektion von Ferkel 312, 306 und 322 erfolgte am 23., die der Ferkel 80, 59, 323 und 278 am 24. Juni. Sie wurde von dem an das hiesige Institut für Infektionskrankheiten kommandierten Stabsveterinär Herrn Dr. Luerß ausgeführt, wofür ihm nochmals verbindlichster Dank gesagt sei.

Um das Ergebnis gleich vorwegzunehmen: Das mit Fettanreicherung genährte Ferkel 312, das mit gemischter Nahrung gefütterte Ferkel 322 und die beiden mit Kohlenhydratanreiche-

[1]) Neißer und Guerrini, Arb. a. d. Inst. f. experim. Ther. 1908, Heft 4.

[2]) Böhme, Münchn. med. Wochenschr. 1909, Nr. 22.

rung genährten Ferkel 80 und 59 müssen als stark, die beiden Eiweißtiere und das zweite Fettier 306 als schwach infiziert bezeichnet werden.

Sektionsbefund bei Schwein 312: Oberhalsdrüsen: o. B. Mittelhalsdrüsen: o. B. Unterhalsdrüsen: o. B. Lungen: Die Oberfläche beider Lungen ist übersät mit hanfkorn- bis linsengroßen, glasig aussehenden Tuberkeln. Das Lungengewebe ist ebenfalls mit Tuberkeln durchsetzt, die bis Linsengröße haben. Bronchialdrüsen: stark vergrößert, höckrig, im Innern zahlreiche Knötchen. Drüse an der oberen Brustwand: o. B. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 22 cm lang, 4 cm breit, 1 cm dick; auf der Oberfläche derselben 6 erbsengroße, ganz frische Tuberkeln; im Innern des Milzparenchyms keine Tuberkeln. Milzlymphdrüse: geschwollen, mit einem stecknadelkopfgroßen frischen Tuberkel. Magenhilusdrüse: o. B. Mesenterialdrüsen: leicht geschwollen, sonst o. B. Leber: 20 cm breit, 18 cm lang, 4 cm dick; an der Oberfläche stecknadelkopf- bis hanfkorngroße Tuberkel, mit zum Teil beginnender Verkäsung; im Leberparenchym ebenfalls teilweise in Verkäsung begriffene bis erbsengroße Tuberkel. Portaldrüse: höckrig, mit Tuberkeln durchsetzt. Nieren: rechte 8 cm lang, 4 cm breit, 2 cm dick; linke $8^1/_2$ cm lang, $3^1/_2$ cm breit, $2^1/_2$ cm dick; rechte Niere o. B.; an der Oberfläche der linken ein hanfkorngroßer Tuberkel, im Innern derselben kein Befund. Nierenlymphdrüse: o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Schamdrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: rechts walnußgroß, durchsetzt mit zum Teil in Verkäsung begriffenen Tuberkeln, links o. B. Kniekehldrüsen: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 306: Parotis: o. B. Oberhalsdrüsen: o. B. Unterhalsdrüsen: stark geschwollen, mit verschiedenen, teilweise in Verkäsung begriffenen Herden. Lungen: unter der Pleura mäßig zahlreiche, einzelnstehende, ganz frische Knötchen. Bronchialdrüsen: eine enthält einen hirsekorngroßen Tuberkel. Lungenhilusdrüsen: etwas geschwollen. Lymphdrüse an der oberen Brustwand: stark geschwollen, mit mehreren linsengroßen Tuberkeln. Mittelfelldrüsen: o. B. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 22 cm lang, 5 cm breit, 2 cm dick, 3 bis 4 kleinerbsengroße, graugelbe, tuberkulöse Herde. Mesenterialdrüsen: mäßig vergrößert. Magenhilusdrüsen: o. B. Leber: 21 cm lang, 18 cm breit, 4 cm dick, o. B. Portaldrüse: geschwollen. Nieren: rechts 9 cm lang, $4^1/_2$ cm breit, 2 cm dick; links 8 cm lang, $4^1/_2$ cm breit, 2 cm dick; beide o. B. Nierenhilusdrüsen: o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Schamdrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: vergrößert. Kniekehldrüsen: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 80: Ober-, Mittel-, Unterhalsdrüsen: o. B. Lungen: beiderseits zahlreiche Tuberkeln an der Oberfläche und im Innern. Bronchialdrüsen: etwa pflaumengroß, mit einigen Tuberkeln durchsetzt. Drüse an der oberen Brustwand: pflaumengroß, mit Tuberkeln durchsetzt. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 23 cm lang, 4 cm breit, 1 cm dick, mit 7 bis erbsengroßen

Tuberkeln, besonders an der Oberfläche. Mesenterialdrüsen: o. B. Milzhiliusdrüse: etwa pflaumengroß, ohne Tuberkeln. Leber: 21 cm lang, 17 cm breit, $2^1/_2$ cm dick, besonders an der Oberfläche, aber auch im Innern zahlreiche bis erbsengroße Tuberkeln. Portaldrüsen: pflaumengroß. Nieren: rechts 8 cm lang, 4 cm breit, 2 cm dick; links 8 cm lang, 4 cm breit, 2 cm dick; beide o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Nierenhilusdrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: o. B. Kniekehldrüsen: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 59: Ober-, Mittel-, Unterhalsdrüsen: o. B. Lungen: beiderseits übersät mit Tuberkeln, sich wie ein Reibeisen anfühlend. Bronchialdrüsen: kleinapfelgroß, ein kleiner Tuberkel. Drüse an der oberen Brustwand: stark vergrößert, mit einem Tuberkel. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 23 cm lang, 5 cm breit, 1 cm dick, mit äußerst zahlreichen, hirsekorn- bis erbsengroßen Tuberkeln. Milzhilusdrüsen: geschwollen, mit vereinzelten Tuberkeln. Mesenterialdrüsen: o. B. Leber: 23 cm lang, 15 cm breit, 4 cm dick, mit mäßig zahlreichen Tuberkeln, besonders an der Oberfläche. Portaldrüsen: etwa pflaumengroß, aber ohne Tuberkeln. Nieren: rechts 8 cm lang, 4 cm breit, 2 cm dick; links $8^1/_2$ cm lang, 4 cm breit, 2 cm dick; beide o. B. Nierenhilusdrüsen: o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Schambeindrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: rechts pflaumengroß, durchsetzt mit Tuberkeln, links o. B. Kniekehldrüsen: o. B. Drüsen oberhalb der Sprunggelenke: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 323: Ober-, Mittel- und Unterhalsdrüsen: o. B. Lungen: rechts zwei hirsekorngroße Tuberkel, links o. B. Bronchialdrüsen: etwas vergrößert, mit einigen Tuberkeln. Drüse an der oberen Brustwand: pflaumengroß, mit Tuberkeln durchsetzt. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 24 cm lang, 3 cm breit, 1 cm dick, o. B. Milzhilusdrüse: o. B. Mesenterialdrüsen: o. B. Leber: 21 cm lang, 17 cm breit, 3 cm dick, auf der Zwerchfellseite ein stecknadelkopfgroßer Tuberkel. Nieren: rechts $8^1/_2$ cm lang, 5 cm breit, 2 cm dick; links 8 cm lang, 5 cm breit, 2 cm dick; beide o. B. Nierenhilusdrüsen: o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Schamdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: rechts mandelgroß, ein Tuberkel; links ungefähr bohnengroß. Drüsen oberhalb der Sprunggelenke: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 278. Parotis: o. B. Ober-, Mittel-, Unterhallsdrüsen: o. B. Lungen: rechts 8 stecknadelkopfgroße, links ein etwa linsengroßer Tuberkel unter der Pleura; im Innern nichts. Bronchialdrüsen: erbsengroß, mit spärlichen Tuberkeln durchsetzt. Drüse an der oberen Brustwand: dattelgroß, mit Tuberkeln durchsetzt. Mittelfelldrüsen: o. B. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 21 cm lang, 3 cm breit, 1 cm dick, o. B. Milzdrüse: erbsengroß, sonst o. B. Magenhilusdrüse: o. B. Leber: 22 cm lang, 15 cm breit, 4 cm dick, o. B. Leberhilusdrüsen: nicht vergrößert, aber mit Tuberkeln durchsetzt. Nieren: rechts $8^1/_2$ cm lang, 5 cm breit, 3 cm

Tabelle

Nr. des Versuchstieres	Art der Nahrung	Befund an den Lungen	Befund an d. Bronchialdrüsen	Befund an der Leber	Befund an der Portaldrüse	Befund an der Milz
312	Fettanreicherung	Oberfläche u. Inneres beid. Lungen übersät mit hanfkorn- bis linsengroßen, glasig aussehenden Tuberkeln	Stark vergrößert, höckrig; im Innern zahlreiche Knötchen	An der Oberfläche und im Innern stecknadelkopf- bis hanfkorngroße bzw. erbsengroße, z. T. in Verkäsung begriffene Tuberk.	Höckrig, mit Tuberkeln durchsetzt	Auf der Oberfläche sechs erbsengroße, frische Tuberkel, im Innern nichts
306	Fettanreicherung	Unter der Pleura mäßig zahlr., einzelstehende, ganz frische Knötchen	Eine enthält einen hirsekorngroßen Tuberkel	o. B.	Geschwollen	Enthält 3—4 kleinerbsengroße, graugelbe tuberkulöse Herde
80	Kohlenhydratanreicherung	Beiderseits zahlreiche Tuberkel an der Oberfläche u. im Innern	Etwa pflaumengroß, mit einigen Tuberkeln durchsetzt	Besonders an d. Oberfläche, aber auch im Innern zahlreiche bis erbsengroße Tuberkel	Pflaumengroß	7 bis erbsengroße Tuberkel, besonders an der Oberfläche
59	Kohlenhydratanreicherung	Beiderseits übersät mit Tuberkeln, sich wie ein Reibeisen anfühlend	Kleinapfelgroß, ein Tuberkel	Mäßig zahlreiche Tuberkel, besonders an der Oberfläche	Etwa pflaumengroß, ohne Tuberkel	Äußerst zahlreiche, hirsekorn- bis erbsengroße Tuberkel
323	Eiweißanreicherung	Rechts 2 hirsekorngroße Tuberkel; links o. B.	Etwas vergrößert, mit einigen Tuberkeln	Auf d. Zwerchfellseite ein stecknadelkopfgroßer Tuberkel	—	o. B.
278	Eiweißanreicherung	Rechts 8 stecknadelkopfgroße, links ein etwa linsengroßer Tuberkel unt. der Pleura	Erbsengroß, m. spärlichen Tuberkeln durchsetzt	o. B.	Nicht vergrößert, aber mit Tuberkeln durchsetzt	o. B.
322	Gemischte Nahrung	Übersät mit stecknadelkopf- bis bohnengroßen frischen Tuberkeln. Keine Verkäsung	Pflaumengroß, durchsetzt mit Tuberkeln	Durchsetzt mit hirsekorngroßen Tuberkeln	Vergrößert, höckrig, von einzelnen Tuberkeln durchsetzt	9 bis erbsengroße, teils frische, teils in Verkäsung begriffene Tuberkel

VII.

Befund an der Milzlymphdrüse	Befund an den Nieren	Befund an den Unterhalsdrüsen	Befund an der Lymphdrüse an der oberen Brustwand	Befund an den Kniefaltendrüsen	Befund an den Mesenterialdrüsen
Geschwollen, mit einem stecknadelkopfgroßen, frischen Tuberkel	Rechte Niere o. B., auf der Oberfläche der linken ein hanfkorngroßer Tuberkel; im Innern nichts	o. B.	o. B.	Rechts walnußgroß, durchsetzt mit z. T. in Verkäsung begriffenen Tuberkeln. Links o. B.	Leicht geschwollen
—	o. B.	Stark geschwollen, mit verschiedenen, z. T. in Verkäsung begriffenen Herden	Stark geschwollen	Vergrößert	Mäßig vergrößert
Etwa pflaumengroß, ohne Tuberkel	o. B.	o. B.	Pflaumengroß, mit Tuberkeln durchsetzt	o. B.	o. B.
Geschwollen, mit vereinzelten Tuberkeln	o. B.	o. B.	Stark vergrößert, mit einem Tuberkel	Rechts pflaumengroß, durchsetzt mit Tuberkeln	o. B.
o. B.	o. B.	o. B.	Pflaumengroß, mit Tuberkeln durchsetzt	Rechts mandelgroß, ein Tuberkel; links etwa bohnengroß	o. B.
o. B.	o. B.	o. B.	Dattelgroß, mit Tuberkeln durchsetzt	o. B.	o. B.
Etwas vergrößert	o. B.	o. B.	o. B.	Rechts kleinapfelgroß, mit beginnender Verkäsung. Links o. B.	o. B.

dick; links 9 cm lang, 5 cm breit, 2 cm dick; beide o. B.; Farbe: graubraun. Nierenhilusdrüsen: o. B. Innere Darmbeindrüsen: o. B. Schamdrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: o. B. Kniekehldrüsen: o. B. Drüsen oberhalb der Sprunggelenke: o. B.

Sektionsbefund bei Schwein 322. Ober-, Mittel-, Unterhalsdrüsen: o. B. Lungen: übersät mit stecknadelkopf- bis bohnengroßen, frischen Tuberkeln, keine Verkäsung. Bronchialdrüsen: pflaumengroß, durchsetzt mit Tuberkeln. Drüse an der oberen Brustwand: o. B. Mittelfelldrüsen: geschwollen und mit Tuberkeln durchsetzt. Retropharyngealdrüsen: o. B. Milz: 24 cm lang, 4 cm breit, 1 cm dick, übersät mit 9 bis erbsengroßen, teils frischen, teils in Verkäsung begriffenen Tuberkeln. Milzlymphdrüse: etwas vergrößert. Mesenterialdrüsen: o. B. Leber: 22 ccm lang, 20 cm breit, 3 cm dick, durchsetzt mit hirsekorngroßen Tuberkeln, besonders an der visceralen Seite. Portaldrüse: vergrößert, höckerig, von einzelnen Tuberkeln durchsetzt. Nieren: rechts 8 cm lang, 5 cm breit, $1^1/_2$ cm dick; links 8 cm lang, 5 cm breit, 2 cm dick; beide o. B. Nierenhilusdrüsen: o. B. Innere Darmbeindrüsen: rechts mandelgroß, links o. B. Schamdrüsen: o. B. Bugdrüsen: o. B. Kniefaltendrüsen: rechts kleinapfelgroß, mit beginnender Verkäsung, links o. B. Kniekehldrüsen: o. B.

Tabelle VII enthält die Zusammenstellung der Befunde.

Schlußfolgerungen zu Mitteilung I und II.

1. Bei Experimenten über den Zusammenhang von Infektion und Ernährung muß die Frage des Eintritts und die des Verlaufs von Infektion getrennt untersucht werden.

2. Die Ernährung der verchiedenen Gruppen muß eine vergleichbare sein. Sie muß mindestens die Aufgabe erfüllen, denselben die gleiche Anzahl von Calorien, die gleiche Menge von Wasser und von Salzen zu verfüttern.

3. Irgendwelche gesetzmäßige Differenzen der Gewichtszunahme zwischen infizierten und nicht infizierten Tieren gelangten nicht zur Beobachtung.

4. Die Intracutanprüfung mit Mengen von 0,0008 bis 0,1 ccm bovinem Tuberkulin kann zur Erkennung einer tuberkulösen Erkrankung bei Ferkeln mit Erfolg benutzt werden, sie ist aber zur Erkennung der Ausdehnung der Erkrankung nicht brauchbar.

5. Die verschiedenartige Ernährung hat auf den Komplementgehalt und die opsonische Kraft der Tiere keinen nennenswerten Einfluß ausgeübt.

6. Die infizierten und nicht infizierten Tiere zeigten bezüglich ihres Komplementgehaltes keine Unterschiede.

7. Die opsonische Kraft der nicht infizierten Tiere war annähernd gleichgroß, die der infizierten Tiere über die Norm vermehrt; sie zeigte ziemlich erhebliche, aber keine gesetzmäßigen Schwankungen.

8. Ein günstiger Einfluß reichlicher Eiweißfütterung auf die Ausbreitung der Tuberkulose beim Ferkel war deutlich ausgesprochen, besonders gegenüber den Kohlenhydrattieren.

Über die Darmwirkung des Codeins und des Thebains. Bemerkungen zur Arbeit von R. Meissner[1]).

Von

J. Pal und E. Popper.

(Aus der I. medizinischen Abteilung des k. k. Allgemeinen Krankenhauses in Wien.)

(Eingegangen am 24. Oktober 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

Aus den Untersuchungen des einen von uns (Pal) ist bereits 1902[2]) hervorgegangen, daß die Opiumalkaloide hinsichtlich ihrer Darmwirkung am lebenden Tiere in zwei Gruppen zu trennen sind. Die eine wirkt erregend auf die Darmwand, sie erhöht ihren Tonus und steigert die Pendelwellen, während bei der andern dieser Effekt fehlt. Zur ersten Gruppe gehören das Morphin, Codein und alle Morphinderivate, auch Apomorphin, Apocodein und das Thebain[3]); zur zweiten die Alkaloide der Papaveringruppe (Papaverin, Narkotin, Narcein). Es war daraus zu schließen, daß die aufgedeckte pharmakodynamische Reaktion mit der chemischen Konstitution zusammenhängt und den Körpern der Phenanthrengruppe (Morphin, Codein, Thebain) zukommt.

E. Popper und C. Frankl[4]) haben in einer am überlebenden Darm von Katzen und Kaninchen nach der Methode von R. Magnus[5]) ausgeführten Versuchsreihe diese Trennung (1912) vollkommen bestätigt. Sie haben gleichzeitig festgestellt, daß die Körper der Papaveringruppe die Darmwand nicht nur nicht erregen, sondern ihren Tonus herabsetzen.

In einer vor kurzem in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit von R. Meissner wird nun berichtet, 1. daß das Codein unwirksam sei, 2. daß das Thebain auf den überlebenden Darm lähmend wirke wie das Papaverin und das Narkotin.

---

[1]) Diese Zeitschr. **54**, 395, 1913.

[2]) Centralbl. f. Physiol. **1902**.

[3]) Das Material dieser Untersuchungen wurde von E. Merck in Darmstadt bezogen.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 28.

[5]) Arch. f. d. ges. Physiol **102**.

Mit Rücksicht auf den Umstand, daß wir in zahllosen Versuchen den Morphin-Papaverinantagonismus (im weiteren Sinne des Wortes) als eine einwandfreie Tatsache festgelegt haben, erscheint es uns wichtig, zu erklären, daß wir die Ergebnisse der Arbeit von R. Meissner in den angeführten beiden Punkten bezüglich ihrer Richtigkeit bestreiten.

Hinsichtlich der Codein- und der Thebainwirkung auf den Darm des lebenden Tieres sei hier auf die in der zitierten Mitteilung von Pal abgebildeten Kurven (Ballonregistrierung) verwiesen. Die nebenstehenden Kurven (s. Fig. 1 bis 4) zeigen den Effekt der Codein- und Thebain-

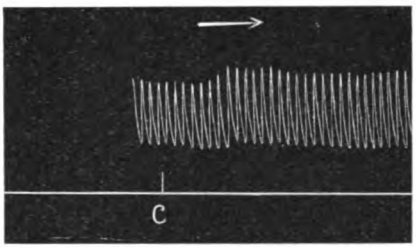


Fig. 1. Kaninchendünndarm, Längsmuskelschreibung.
c = Codein, 10 Tropfen der 1%igen Lösung in 200 Ringerlösung.

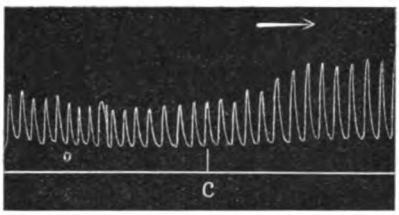


Fig. 2. Kaninchendünndarm, Ringmuskelschreibung.
c = Codein, 10 Tropfen der 1%igen Lösung in 200 Ringerlösung.

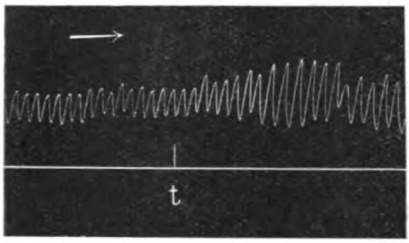


Fig. 3. Kaninchendünndarm, Längsmuskelschreibung.
t = Thebain, 10 Tropfen der 1%igen Lösung in 200 Ringerlösung.

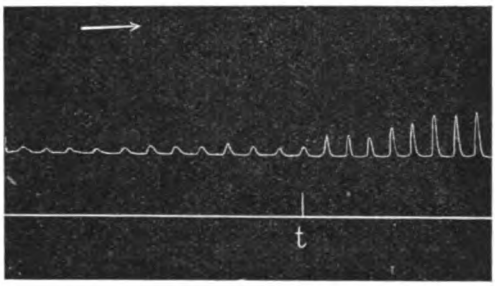


Fig. 4. Kaninchendünndarm, Ringmuskelschreibung.
t = Thebain, 10 Tropfen der 1%igen Lösung in 200 Ringerlösung.

wirkung auf den überlebenden Dünndarm des Kaninchens in der Ring- und in der Längsmuskelschicht in der Versuchsanordnung von Magnus, wie sie auch R. Meissner ausgeführt hat. Nach den erst vor kurzem veröffentlichten Untersuchungen von E. Popper[1]) ergibt Codein in der gleichen Versuchsanordnung bereits in einer Verdünnuug von 1 : 800000

[1]) Arch. f. Physiol. **153**, 1913.

in der Längs- wie auch in der Ringmuskelschicht des überlebenden Kaninchendünndarms eine eben merkbare erregende Reaktion. Thebain[1]) ist nach diesen Bestimmungen erst in einer Verdünnung von 1 : 400000 gleichsinnig wirksam.

Wir sind nach all dem gezwungen, anzunehmen, daß Meissner seine Versuche mit einer Substanz angestellt hat, die nicht mit Thebain identisch war, oder daß sein Thebain mit einem Körper der Papaverin-gruppe verunreinigt war. Es genügt übrigens eine Beimengung von etwa 1 : 14 (Papaverin : Thebain), um die Thebainwirkung vollkommen aufzuheben.

Für das Fehlschlagen der Codeinversuche haben wir keine Erklärung.

Da sich unsere Angaben auf hunderte völlig konform verlaufene Versuche stützen, steht die von Pal aufgedeckte erregende Darmwirkung der Morphinkörper (Phenanthrengruppe) unerschütterlich fest. Das gilt für das Codein ebenso wie für das Thebain, das nach seiner chemischen Konstitution (Vongerichten, Freund u. a.) zur Phenanthrengruppe gehört und nach unseren Darmversuchen stets die Morphinreaktion gibt.

[1]) Wir haben das Material zu diesen Untersuchungen von Hoffmann, La-Roche & Co. in Grenzach bezogen.

Druckfehlerberichtigung zur Arbeit: Über Reaktion zwischen Antikörper und gelöstem Antigen.

Von

Fritzi Krauß.

(Biochem. Zeitschr. Bd. 56, Heft 5 und 6.)

Auf Seite 470 muß der Satz, beginnend auf Zeile 5 von unten, lauten:

„Wir müssen also auf Grund dieser neuerlichen Versuche an der Anschauung festhalten, daß zwischen gelöstem Antigen und Antikörpern eine Reaktion im Sinne einer Verankerung **nicht** stattfindet."

Autorenverzeichnis.

Arnheim, F., siehe Rona und Arnheim.

Bang, Ivar. Über die Mikromethode der Blutzuckerbestimmung. S. 300.

Blumenthal, Ferdinand, und Kurt Oppenheim. Über aromatische Quecksilberverbindungen. III. S. 261.

Carlson, Tor. Über Geschwindigkeit und Größe der Hefevermehrung in Würze. S. 313.

Chodat, R., und K. Schweizer. Über die desamidierende Wirkung der Tyrosinase. S. 430.

György, P. Beiträge zur Permeabilität der Blutkörperchen für Traubenzucker. S. 441.

Hornemann, O. Experimentelle Beitäge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung. II. S. 473.

Jolles, Adolf. Beitrag zur volumetrischen Harnstoffbestimmung. S. 414.

— Über den Nachweis der Saccharose im Harn. S. 420.

Kanitz, Aristides. Bezüglich der Reaktionskinetik der Glucolyse. S. 437.

Krauß. Druckfehlerberichtigung. S. 495.

Kumagai, T. Das Verhalten der Maltase im Blutserum des hungernden und gefütterten Tieres. S. 375.

— Versuche über die Antigenwirkung der Kohlenhydrate. S. 380.

Lean, Hugh Mac. Die Phosphatide des Herzens und anderer Organe. S. 132.

Loewe, S. Membran und Narkose. S. 161.

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. XVIII. S. 112.

— Studien in der Chlorophyllgruppe. XIX. S. 423.

— siehe Borowska und Marchlewski.

Markoff, J. Fortgesetzte Untersuchungen über die Gärungsprozesse bei der Verdauung der Wiederkäuer und des Schweines. S. 1.

Meyer, Kurt. Über das Verhalten einiger Bakterienarten gegenüber d-Glucosamin. S. 297.

Michaelis, L., und P. Rona, Die Wirkungsbedingungen der Maltase aus Bierhefe. I. S. 70.

Oppenheim, Kurt, siehe Blumenthal und Oppenheim.

Pal, J., und E. Popper. Über die Darmwirkung des Codeins und des Thebains. S. 492.

Popper, E., siehe Pal und Popper.

Reale, Enrico. Beitrag zum Kohlenstoffumsatz. S. 143.

Rona, P., und F. Arnheim. Beitrag zur Kenntnis des Erepsins. S. 84.

— siehe Michaelis und Rona.

Rosenblatt, M. Bemerkung zu einer Mitteilung von G. Sonntag: „Die Methode von Gabriel Bertrand zur Zuckerbestimmung". S. 335.

Schweizer, K., siehe Chodat und Schweizer.

Simon, Friedrich. Zur Kenntnis der Giftwirkung arteigener Organprodukte. S. 337.

Spoehr, H. A. Photochemische Vorgänge bei der diurnalen Entsäuerung der Succulenten. S. 95.

Straub, Walther. Über die Beeinflussung der Morphinwirkung durch die Nebenalkaloide des Opiums. S. 156.

Thomas, Erwin. Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen von Infektion und Ernährung. I. S. 456.

Wierzchowski, Zenon. Über das Auftreten der Maltase in Getreidearten. S. 125.

CHEMISTRY LIBRARY

2000 013 063 419

JOURNAL
Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY

ALF Collections Vault
3 0000 091 477 152